

ESTHER HINDRICKS

EINFLUSS DER SEPARATIONSART AUF DIE
QUALITÄT VON BLUTPRODUKTEN BEIM HUND



Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2018

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2018

© 2018 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin, klinische Pathophysiologie und klinische
Laboratoriumsdiagnostik der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. A. Moritz

Einfluss der Separationsart auf die Qualität von Blutprodukten beim Hund

INAUGURAL- DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet. beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Esther Hindricks

Tierärztin aus Wiesbaden-Dotzheim

Gießen 2018

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

Gutachter: 1) Prof. Dr. Andreas Moritz

2) Prof. Dr. Kerstin Fey

Tag der Disputation: 03.08.2018

Für Bärbel und Richard

Selbständigkeitserklärung

“Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der “Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Inhaltsverzeichnis

EINLEITUNG.....	1
LITERATURÜBERSICHT.....	3
Blutprodukte	3
Vollblut.....	3
Erythrozytenkonzentrat (EK).....	4
Gefrorenes Frischplasma (GFP).....	4
Qualität von Blutprodukten	4
Qualitätsbeeinflussende Faktoren der Blutprodukte	5
Zentrifugation von Vollblut.....	5
Leukozytendepletion mittels Filtration.....	6
Blutkonservierung.....	9
Überblick über die Physiologie der Blutgerinnung	11
Primäre Hämostase.....	11
Sekundäre Hämostase	12
Intrinsischer Weg	12
Extrinsischer Weg.....	13
Gemeinsamer Weg	13
Gerinnungsinhibition	15
Fibrinolyse.....	15
Gerinnungsuntersuchungen	16
Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT).....	16
Prothrombinzeit (PT).....	17
Faktor VIII und Faktor V	17
Fibrinogen	18
Antithrombin.....	18
vWF – Antigen Test	19
Kapillarzonenoelektrophorese/Eiweißelektrophorese.....	19
Albumin und Globuline	21
Erythrozyten.....	21

Inhaltsverzeichnis

Hämoglobin und seine Wechselwirkung mit O ₂ und CO ₂	22
Metabolismus der Erythrozyten	23
Metabolismus der Erythrozyten außerhalb physiologischer Bedingungen.....	24
Zielsetzung der vorliegenden Arbeit.....	26
MATERIAL UND METHODEN	27
Blutspender	27
Voraussetzungen des Blutspenders.....	27
Vorbereitung und Blutentnahme beim Spender	27
Verarbeitung der Blutproben des Spenders	28
Durchführung der Blutspende	29
Methoden	30
Filtration.....	30
Zentrifugation	34
Proben.....	36
Probenverarbeitung aus dem Vollblutbeutel	36
Probenverarbeitung aus dem Plasmabeutel	37
Probenverarbeitung des Erythrozytenkonzentrates	38
Analysemethoden der Proben	38
Gerinnung (STA Compact®).....	38
Faktor V, Faktor VIII, Fibrinogen, PT und aPTTsowie AT III	39
vWF-Antigen	40
Elektrophorese.....	40
Klinische Chemie (ABX Pentra 400).....	40
Laktatdehydrogenase (LDH).....	41
Totalprotein (TTP)	41
Albumin.....	41
Phosphor (P).....	42
Kalium	42
Hämatologische Untersuchung (ADVIA® 2120)	43
Blutgasanalyse (Cobas b 221 System).....	43
Statistik	44

Inhaltsverzeichnis

ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG	46
Studienteilnehmer	46
Parameter der Gerinnung	48
PT	48
aPTT	50
Fibrinogen	51
FV	53
FVIII	55
vWF-Antigen	57
AT III	59
Proteine	61
TTP	61
Albumin (g/L)	64
Parameter der Elektrophorese	67
Albumin (%)	67
α 1-Globuline	68
α 2-Globuline, β 1-Globuline	69
β 2-Globuline	71
γ -Globuline	72
Darstellung der prozentualen Differenz für die Parameter der Elektrophorese zwischen dem VB-Beutel und Plasmabeutel	72
Zelluläre Parameter	74
Hämatokrit (Hkt)	74
Hämoglobin (Hb)	75
Mittlere korpuskuläre Hemoglobinkonzentration / Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)	77
Mittlere gemessene korpuskuläre Hemoglobinkonzentration / Cell Hemoglobin Concentration Mean (CHCM)	79
Mittleres korpuskuläres Volumen / Mean Cell Volume (MCV)	81
Erythrozyten / Red Blood Cells (RBC)	83
Thrombozyten / Platelets (PLT)	85

Inhaltsverzeichnis

Leukozyten / White Blood Cells (WBC)	87
Weitere Parameter	89
Phosphor (P).....	89
Kalium	91
LDH.....	93
pH-Wert	95
pO ₂	97
pCO ₂	99
Glukose	101
Laktat	103
Vergleich des Volumens der Blutprodukte sowie der Separationsdauer	106
DISKUSSION.....	108
Parameter der Gerinnung	108
Gerinnungszeiten aPTT und PT	108
Einfluss der Materialoberfläche von Hohlfaserfiltern auf Gerinnungsparameter.....	109
Einfluss des Leukozytenepletionsfilters auf Gerinnungsparameter	112
Einfluss der Raumtemperatur auf Gerinnungsparameter	114
Proteine.....	116
TTP	116
Albumin (g/l)	117
Elektrophorese.....	117
Zelluläre Parameter	120
WBC und PLT	122
Weitere Parameter	124
Glukose und Laktat	126
pH-Wert	127
pO ₂ und pCO ₂	128
Separationsdauer.....	129
Volumen.....	131
Auswirkung der Hyperlipämie auf die Separation mittels Hohlfasersystem	132
Vergleich der Separationssysteme.....	133

Inhaltsverzeichnis

Schlussfolgerung	134
ZUSAMMENFASSUNG	135
SUMMARY	138
Danksagung	140
Literaturnachweise	142
Abbildungsverzeichnis	156
Tabellenverzeichnis.....	162
Anhang	166

Abkürzungsverzeichnis

a	aktiviert
Abb.	Abbildung
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
BVL	Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
ca.	circa
Ca ²⁺	Calcium
CHCM	Cell Hemoglobin Concentration Mean
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CPD	Citrat – Phosphat – Dextrose
DIC	Disseminierte intravasale Koagulopathie
Diff	Differenz
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EK-B	Erythrozytenkonzentrat Beutel
EK	Erythrozytenkonzentrat
EKs	Erythrozytenkonzentrate
et al.	et alii
F II	Prothrombin
F V	Faktor V

Abkürzungsverzeichnis

F	Faktor
fL	femto-Liter
g	Gramm
<i>g</i>	relative Zentrifugalbeschleunigung
GFP	gefrorenes frisch Plasma
h	Stunden
H ⁺	Wasserstoffionen
H ₂ O	Wasser
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Hb	Hämoglobin
HCO ₃ ⁻	Bicarbonat
HDL	high-density lipoproteins
Hkt	Hämatokrit
K	Kastration
K ⁺	Kalium - Ionen
kg	Kilogramm
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	low-density lipoproteins
MCHC	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MCV	Mean Cell Volume
mg	Milligramm

Abkürzungsverzeichnis

mg/dL	Milligramm pro Deziliter
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Na ⁺	Natrium - Ionen
NAD ⁺	Nicotinamid – Adenin – Dinukleotid
NADH	reduziertes Nicotinamid – Adenin – Dinukleotid
O ₂	Sauerstoff
P	Phosphor
P ₅₀	Halbsättigungspartialdruck
pCO ₂	Kohlendioxidpartialdruck
P-B	Plasmabeutel
PCV	Packed Cell Volume
Pi	anorganisches Phosphat
PL	Phospholipide
PLT	Platelets
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
PT	Prothrombinzeit
RBC	Red Blood Cells
RPM	revolutions per minute
RT	Raumtemperatur

Abkürzungsverzeichnis

SAG - M	Saline – Adenine – Glucose – Mannitol
SP	Spender
SP - CP	Spender Citratplasma
SP - S	Spender Serum
TF	Tissue Factor
TT _{Clauss}	modifizierte Thrombinzeit nach Clauss
TTP	Totalprotein
U	Unit
VB	Vollblut
VLDL	very low-density lipoproteins
VB-B	Vollblutbeutel
vWF : Ag	von – Willebrand – Faktor – Antigen
vWF	von – Willebrand –Faktor
WBC	White Blood Cells
α	Alpha
β	Beta
γ	Gamma
%	Prozent
*	signifikant
**	sehr signifikant
***	hochsignifikant

Abkürzungsverzeichnis

****	höchst signifikant
§	Paragraph
°C	Grad Celsius
μmol/L	Mikromol pro Liter
♂	männlich
♀	weiblich
1,3-DPG	1,3 – Diphosphoglycerat
2,3-DPG	2,3 – Diphosphoglycerat
2,3-DPGM	2,3 – Diphosphoglyceromutase

Einleitung

Im Rahmen des Notfall- und intensivmedizinischen Behandlungsspektrums von Kleintierkliniken spielt die Transfusion von Blutprodukten zur therapeutischen Intervention eine entscheidende Rolle. Lebensrettende Maßnahmen können durch die Verabreichung von Blutprodukten erzielt werden. Indikationen hierfür sind unter anderem starke Blutungen, eine disseminierte intravasale Koagulopathie (DIC) (Lanevski und Wardrop 2001), normovolämische Anämien (Chiaramonte 2004) oder auch Koagulopathien (Lanevski und Wardrop 2001, Chiaramonte 2004). In kleineren Tierarztpraxen werden in Notfallsituationen vorwiegend Vollblutkonserven für die Transfusion verwendet. Im Unterschied hierzu steht in Kleintierkliniken eine effektivere Nutzung des Produktes im Vordergrund. Durch den Einsatz einzelner Blutkomponenten wird eine spezifische Behandlung ermöglicht und Risiken im Zusammenhang mit überflüssig verabreichten Blutbestandteilen vermieden (Davidow 2013). Die Qualität von Blut und Blutprodukten spielt hierbei eine wichtige Rolle. Nach dem Arzneimittelgesetz (AMG) handelt es sich bei Blut und Blutprodukten definitionsgemäß um Arzneimittel (§2 Abs. 1 AMG; § 4 Abs. 2 AMG) (Bundesministerium der Justiz und Verbraucherschutz 2016).

Heutzutage wird die Vollblutspende zeitnah nach ihrer Gewinnung in die Blutkomponenten Plasma und Erythrozytenkonzentrat aufgeteilt. Die Herstellung von Blutkomponenten stellt sich jedoch aufgrund des technischen, aber auch personellen Aufwandes als aufwändig dar. Bei der konventionellen Methode zur Vollblutseparation wird unter anderem eine Vollblutzentrifuge, ein Separator zur Trennung von Erythrozytenkonzentrat und Plasma sowie entsprechend geschultes Personal benötigt (Lucas *et al.* 2004). Daher ist es wünschenswert Alternativen in der Praxis zu etablieren, mit denen ohne großen Aufwand Blutprodukte zur therapeutischen Intervention hergestellt werden können und sich gut in den Praxisalltag integrieren lassen. In der Humanmedizin wurden Filtersysteme wie das 3M™ Blood Separation System der Firma 3M Deutschland GmbH entwickelt. Diese Technologie wurde dazu konzipiert, um auf effiziente Weise Blutprodukte herstellen zu können, ohne auf eine Stromversorgung angewiesen sein zu müssen. Das System ermöglicht es mithilfe der Gravitation und ohne zusätzliche technische Ausstattung aus

einer Vollblutkonserve das Plasma und das Erythrozytenkonzentrat separat zu gewinnen (3M Deutschland GmbH 2016).

Aufgrund der Tatsache, dass die Blutkomponentenherstellung kleinere Tierarztpraxen ohne Blutzentrifuge vor eine große Herausforderung stellt, ist es ein besonderer Reiz Filtersysteme zur Vollblutseparation auch in der Tiermedizin verstärkt zu etablieren und nutzen zu können.

Nach dem Wissen der Autorin liegen in der Veterinärmedizin für die Spezies Hund bislang keine publizierten Daten vor, welche die Qualitäten der einzelnen Blutprodukte während ihres unterschiedlichen Herstellungsprozesses mit den oben genannten Verfahren vergleichend erfassen. Das Ziel dieses Dissertationsprojektes ist die Evaluierung der Qualität von Blutprodukten die zum einen mit dem klassischen Verfahren der Vollblutzentrifugation und zum anderen mit dem 3M™ Blood Separation System hergestellt wurden.

Literaturübersicht

Blutprodukte

Im Rahmen der Transfusionsmedizin spielt die Verfügbarkeit und die Auftrennung des Vollblutes eine entscheidende Rolle. Um eine möglichst effektive Verwendung der Blutprodukte zu ermöglichen, wird das Vollblut in seine einzelnen Komponenten aufgetrennt (Willer und Riedesel 1985). Die Verwendung von unterschiedlichen Blutprodukten stellt heutzutage ein übliches Vorgehen dar (Ergül Ekiz *et al.* 2012).

Um die einzelnen Blutkomponenten gewinnen zu können bedient man sich unterschiedlicher physikalischer Verfahren, welche zur Auftrennung des Vollblutes führen. Dies geschieht entweder mithilfe der Filtration des Vollblutes (Hornsey *et al.* 2005, Brune *et al.* 2009, Johnson *et al.* 2015) oder über die Zentrifugation (Lucas *et al.* 2004). Die einzelnen Blutprodukte unterscheiden sich zum einen in ihren jeweiligen Lagerungsbedingungen und zum anderen natürlich auch in ihrer Indikation zur Anwendung am Patienten. Im Folgenden wird darauf näher eingegangen.

Vollblut

Das Vollblut setzt sich zusammen aus dem Plasma mit seinen Proteinen und Gerinnungsfaktoren sowie aus zellulären Komponenten wie den Leukozyten, Thrombozyten und Erythrozyten (Chiaramonte 2004). In Notfallsituationen bei denen der Hund 50 % seines Blutes verloren hat, bedarf es einer Vollbluttransfusion. Indikationen hierfür sind starke Blutungen aufgrund von einer disseminierten intravasalen Koagulopathie (DIC), Leberinsuffizienz, Hämophilie oder einer Thrombozytopenie (Lanevski und Wardrop 2001).

Erythrozytenkonzentrat (EK)

Ein reines Erythrozytenkonzentrat (EK) kommt bei der Behandlung von normovolämischen Anämien zum Einsatz, wenn der Patient nicht auf Gerinnungsfaktoren angewiesen ist (Chiaramonte 2004). Das Erythrozytenkonzentrat kann durch die Zugabe von Stabilisatoren wie z.B. *Saline-Adenine-Glucose-Mannitol* (SAG-M) bei 4 °C/-2 °C bis zu 42 Tagen gelagert werden (Kisielewicz und Self 2014, Walton 2014).

Gefrorenes Frischplasma (GFP)

Plasma welches innerhalb von 6 h bei – 20 °C tiefgefroren wurde, stellt das sogenannte gefrorene Frischplasma (Chiaramonte 2004) mit einer Haltbarkeit von bis zu einem Jahr dar. Nach dieser Zeit kann es weitere vier Jahren gelagert werden, wird dann jedoch als gefrorenes Plasma bezeichnet (Chiaramonte 2004, Rozanski und Laforcade 2004). Gefrorenes Plasma dient der Therapie z.B. einer Hämophilie B oder einer Rodentizid Vergiftung (Lanevski und Wardrop 2001). Das gefrorene Frischplasma findet bei der Hypoproteinämie oder bei Koagulopathien Anwendung, da es wichtige Gerinnungsfaktoren enthält (Lanevski und Wardrop 2001, Chiaramonte 2004). Es dient neben der Verabreichung von Vit-K1-Präparaten der Therapie eines Vitamin - K - Mangels, einer Leberinsuffizienz (welche zur einer Verminderung der Gerinnungsfaktoren führt), der Therapie einer DIC, der von – Willebrand – Krankheit, einer Hämophilie A oder aber auch einer Hämophilie B (Lanevski und Wardrop 2001).

Qualität von Blutprodukten

Aufgrund der Tatsache, dass die Qualität von Blutprodukten einen entscheidenden Faktor für die Sicherheit des Blutproduktes darstellt, wird im Folgenden auf die Qualitätskriterien für gefrorenes Frischplasma und für das Erythrozytenkonzentrat näher eingegangen.

Im Hinblick auf das gefrorene Frischplasma, sollte dieses Produkt nach der Herstellung mindestens 50 % des Initialwertes der Gerinnungsfaktoren aufweisen. Zelluläre Komponenten wie Leukozyten dürfen lediglich $<1 \times 10^9/l$ vorhanden sein, Erythrozyten $<3 \times 10^9/l$ und Thrombozyten $<30 \times 10^9/l$. Eine Sterilität des Produktes wird angestrebt sowie

ein Fehlen von sichtbaren Ausfällungen. Für das Erythrozytenkonzentrat wird ein Hämatokrit von 0,50-0,75 l/l vorausgesetzt. Das Produkt sollte ebenfalls steril sein und ohne Hinweise auf eine erkennbare Hämolyse (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2011).

Qualitätsbeeinflussende Faktoren der Blutprodukte

Die Qualität der einzelnen Blutprodukte ist von diversen Faktoren abhängig. Diese sind zum einen die Technik mit der das EK gewonnen wurde, die Wahl des verwendeten Blutbeutels, die Lagerungstemperatur, das Medium in dem sich die Erythrozyten befinden, biochemische Parameter sowie die Häufigkeit der Durchmischung der Erythrozyten mit dem umgebenden Medium (Willer und Riedesel 1985). Einen Einfluss auf die Qualität des Plasmas haben die Art der Herstellung (Chan und Sparrow 2014, Johnson *et al.* 2015), die Lagerungsdauer und die Temperaturbedingungen (Wardrop und Brooks 2001). Des Weiteren wird die Plasmaqualität durch unterschiedliche Methoden beeinflusst, um das Plasma nach der Lagerung wieder aufzutauen (Pashmakova *et al.* 2015).

Zentrifugation von Vollblut

Die Zellgröße und die Dichte der Blutzellen bestimmen das Sedimentationsverhalten. Neben diesen Faktoren spielt auch die Flexibilität der Zellen eine Rolle. Diese ist abhängig von der Temperatur, weshalb die Zentrifugation bei 20 °C oder höher durchgeführt werden sollte. Eine weitere Rolle spielt die Viskosität des Mediums. Die Zentrifugation läuft in mehreren Phasen ab (Abbildung 1). Zu Beginn der Zentrifugation befinden sich die Zellen in einer Mischung aus dem Plasma und dem verwendeten Antikoagulant. Während der ersten Phase der Zentrifugation erfolgt die Auftrennung der Zellen anhand ihres jeweiligen Volumens. Thrombozyten werden aufgrund ihres geringeren Volumens weniger stark nach außen gedrängt, als Leukozyten und Erythrozyten, die ein höheres Volumen aufweisen. Aufgrund dessen lagern sich Leukozyten und Erythrozyten in Abhängigkeit von der Zentrifugationsgeschwindigkeit und –zeit unterschiedlich innerhalb des Beutels ab. Im unteren Teil des Beutels kommen zunächst die Leukozyten zum Liegen. Oberhalb dieser

Schicht lagern sich die Erythrozyten ab und darüber befindet sich das thrombozytenreiche Plasma. Mit fortschreitender Zentrifugationsdauer schließt sich die Phase an, innerhalb derer die Zellen in Abhängigkeit ihres spezifischen Gewichtes separiert werden. Dies führt dazu, dass die Sedimentation der Thrombozyten aus dem Plasma erfolgt. Die Erythrozyten lagern sich am Boden des Beutels ab und drücken auf diese Weise die Leukozyten nach oben. Am Ende der Zentrifugation sind folgende Schichten ausgebildet. Im unteren Teil des Beutels befinden sich die Erythrozyten. In den darüberliegenden Schichten kommen die Leukozyten und Thrombozyten („*Buffy Coat*“) und darüber das zellfreie Plasma zum Liegen (European Committee on Blood Transfusion 2015). Wurde vor der Zentrifugation eine Leukozytendepletion durchgeführt, fehlt der „*Buffy Coat*“. Im Folgenden wird auf die Leukozytendepletion näher eingegangen.

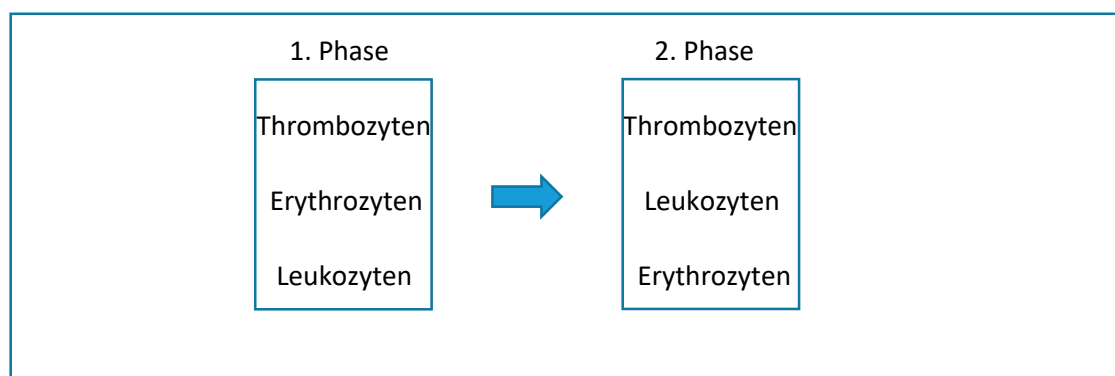


Abbildung 1: Phasen der Zellschichtung nach Volumen (1. Phase) und spezifischem Gewicht (2. Phase)

Leukozytendepletion mittels Filtration

Die Entfernung der Leukozyten aus einer Blutkomponente wird als Leukozytendepletion bezeichnet (Notomi *et al.* 2016). Die Leukozytendepletion ist von diversen biophysikalischen Faktoren abhängig. Diese sind die Menge der Leukozyten, die Zusammensetzung des Plasmas, der Temperatur des Blutes beim Passieren des Filters, die Flussrate und der Zeitpunkt der Leukozytendepletion im Anschluss an die Blutentnahme (Dzik *et al.* 2000).

Während des Herstellungsprozesses der Blutprodukte werden die Leukozyten und Thrombozyten entfernt, um deren Freisetzung von bioaktiven Komponenten und Zytokinen

zu vermeiden. Dies dient dazu, sowohl die Lagerungsschäden („*storage lesions*“) als auch spätere Transfusionsreaktionen zu minimieren (Ergül Ekiz *et al.* 2012, Kisielewicz und Self 2014). Während der Lagerung von Blutprodukten ohne vorherige Leukozytendepletion kommt es zu einer Aggregation von Thrombozyten und Leukozyten, die nach der Transfusion zu pathologischen Prozessen führen (Brownlee *et al.* 2000). Callan *et al.* und Purcell *et al.* zeigten, dass Erythrozytenkonzentrate ohne vorherige Leukozytendepletion einen deutlich höheren Gehalt an Interleukin-8 während der Lagerung aufwiesen (Callan *et al.* 2013, Purcell *et al.* 2015). McMichael *et al.* demonstrierten, dass durch die Entfernung der Leukozyten und Thrombozyten vor der Lagerung des Erythrozytenkonzentrates das Auftreten von inflammatorischen Prozessen nach einer Transfusion verringert wurde (McMichael *et al.* 2010).

Im Rahmen der Lagerung setzen Leukozyten Proteasen (Bratosin D. *et al.* 2002) und Lipasen frei (Hess 2006). Aufgrund der Tatsache, dass den Erythrozyten unter Lagerungsbedingungen die protektiven Antiproteasen des Plasmas fehlen kommt es zum Auftreten von einer Hämolyse (Bratosin D. *et al.* 2002). Sind im EK Leukozyten enthalten, beeinflussen diese und ihre Nebenprodukte die Qualität des Blutproduktes (Ergül Ekiz *et al.* 2012). Daher kann die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten durch eine vorherige Leukozytenreduktion verbessert werden (Lacerda *et al.* 2014). Ein weiterer Vorteil in der Leukozytendepletion liegt darin begründet, dass die Leukozyten keine Glukose mehr verstoffwechseln können und somit auch weniger Stoffwechselendprodukte anfallen (Hess und Greenwalt 2002). Unter verschiedenen Gesichtspunkten bringt die Leukozytendepletion somit wesentliche Vorteile mit sich. Die Erythrozytenkonzentrate weisen nach ihrer Lagerung einen erhöhten Gehalt an Erythrozyten, dem Hämoglobin (Hb), dem *packed cell volume* (PCV) und einer vermehrten Menge an 2,3 – Diphosphoglycerat (2,3-DPG) auf (Ergül Ekiz *et al.* 2012).

Auch unter der Berücksichtigung von unerwünschten Reaktionen im Anschluss an die Transfusion bringt die Leukozytendepletion entscheidende Vorteile mit sich. Die Anwesenheit von Leukozyten in Blutprodukten kann zu unerwünschten Reaktionen im Zusammenhang mit der Transfusion führen. Diese stellen beispielsweise die transfusionsassoziierte Immunsuppression, die febrile nicht-hämolytische

Transfusionsreaktion, die Entwicklung von Mikroemboli in der Lunge oder die Alloimmunisierung gegen Thrombozyten dar (Brownlee *et al.* 2000, Lacerda *et al.* 2014). Durch die Verwendung leukozytendepletierter Blutkomponenten reduziert dies das Auftreten von Komplikationen im Anschluss an die Transfusion und minimiert das Risiko der Übertragung von Infektionskrankheiten (Brownlee *et al.* 2000, Dzik *et al.* 2000). Eine Übertragung von Infektionskrankheiten durch Blutprodukte mit *Anaplasma phagocytophilum*, *Anaplasma platys* und *Ehrlichia canis* wurde bereits beschrieben (Sainz *et al.* 2015), wenn der Spender zuvor infiziert war.

Nach den „Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verarbeitung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich“ sollte der Restleukozytengehalt des Plasmas nach der Herstellung $< 1 \times 10^9/l$ und der Restthrombozytengehalt $< 30 \times 10^9/l$ betragen (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2011). Die *U.S. Food and Drug Administration* legt in ihrer Leitlinie für die Humanmedizin folgende Kriterien bezüglich der Leukozytendepletion fest. Nach der Leukozytendepletion des Vollblutes oder des Erythrozytenkonzentrates müssen mindestens 85 % der Erythrozyten und nur noch weniger als 5×10^6 Restleukozyten des Blutspenders im Produkt enthalten sein (Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research 2012). Gemäß den europäischen Leitlinien handelt es sich bei leukozytendepletiertem Vollblut beziehungsweise bei leukozytendepletiertem Erythrozytenkonzentrat um ein Produkt, welches sogar weniger als 1.0×10^6 Leukozyten enthält (European Committee on Blood Transfusion 2015). Nach Dzik *et al.* liegen keine wissenschaftlichen Hinweise vor, die den Leukozytengehalt der Blutkomponenten nach den europäischen Leitlinien favorisieren würden (Dzik *et al.* 2000). Die in der Humanmedizin verfügbaren Leukozytenfilter wurden im Bereich der Veterinärmedizin für die Spezies Hund bisher nur in geringem Ausmaß auf ihre Effizienz hin untersucht (Ergül Ekiz *et al.* 2012).

Im Hinblick auf die Qualität des Plasmas zeigte sich in humanmedizinischen Studien, dass die Leukozytendepletion in Abhängigkeit des verwendeten Filters eine Reduktion an Gerinnungsfaktoren mit sich bringen kann (Cardigan *et al.* 2001, Alhumaidan *et al.* 2013). Cardigan *et al.* zeigten dies für die Faktoren XII, XI, IX, VIII und für den Faktor V. Möglicherweise führt eine negative Ladung auf der künstlichen Oberfläche der

verwendeten Filter zur einer Aktivierung der Gerinnung. Als weitere Ursache könne auch eine Bindung der Gerinnungsfaktoren an die Filteroberfläche in Betracht gezogen werden. Die beobachteten Veränderungen in der Plasmaqualität scheinen jedoch weder einen Einfluss auf den therapeutischen Nutzen, noch auf die Sicherheit des Plasmas zu haben (Cardigan *et al.* 2001). Im Gegensatz dazu zeigten andere Forscher, dass die Filtration keine Aktivierung der Gerinnung herbeiführt (Riggert *et al.* 1997, Heiden *et al.* 2004, Runkel *et al.* 2005, Aboul Enein *et al.* 2016).

Blutkonservierung

Die Medien in denen die Blutprodukte gelagert werden dienen dazu ihre Qualität zu erhalten. Es wird zwischen einer Stabilisatorlösung und einer Additivilösung unterschieden, wobei zunächst auf die Stabilisatorlösung näher eingegangen wird. Das Antikoagulant und Konservierungsmittel Citrat-Phosphat-Dextrose (CPD) wird für Vollblut verwendet. Das Citrat führt zur Hemmung der Gerinnungskaskade, indem es eine Bindung mit dem Calcium (Ca^{2+}) im Blut eingeht (Willer und Riedesel 1985, Greening *et al.* 2010). Es kann die Zellmembran nicht durchdringen und dient dazu, den intrazellulären pH-Wert aufrechtzuerhalten (Kurup *et al.* 2003). Der Zusatz von Phosphat hat Auswirkungen auf ein wichtiges Enzym der Glykolyse. Das Phosphat ist in der Lage, über die Zellmembran in die Zelle einzudringen. Es führt zur Aktivierung der Phosphofruktokinase (Besselink *et al.* 2003). Dieses Enzym katalysiert während der Glykolyse die Umwandlung von Fruktose – 6 – Phosphat zu Fructose – 1,6 – bisphosphat, wodurch die Glykolyse voranschreitet und Adenosintriphosphat (ATP) und 2,3 – DPG generiert werden (Rapoport, Tom, A. *et al.* 1976, Harvey 2012). Das Phosphat hat auch eine Bedeutung für die Aufrechterhaltung einer physiologischen Sauerstoffbindungskurve (Willer und Riedesel 1985). Des Weiteren dient es dazu das Laktat zu puffern, welches während des erythrozytären Stoffwechsels gebildet wird (Lucas *et al.* 2004). Das Phosphat zeigt somit positive Effekte auf die Erythrozyten und vermindert dadurch das Auftreten einer Hämolyse (Hess *et al.* 2000, Besselink *et al.* 2003). Eine weitere Komponente der CPD stellt die Dextrose dar, die als Metabolit für die Glykolyse verwendet wird. Auf diesem Wege wird ATP generiert, welches eine Bedeutung für das Überleben der Erythrozyten mit sich bringt (Willer und Riedesel 1985).

Bei Additivlösungen handelt es sich um proteinfreie Lösungen die dazu dienen, die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten während der Lagerung auszudehnen (Hess 2006, Lacerda *et al.* 2014). Bei *Saline-Adenine-Glucose-Mannitol (SAG-M)* handelt es sich um eine Additivlösung die aus Kochsalzlösung, Adenin, Glukose und Mannitol besteht, wobei die Erythrozyten erst nach der Entfernung des Plasmas mit der Additivlösung in Kontakt kommen (Greening *et al.* 2010, Gevi *et al.* 2012). Um die Überlebensfähigkeit der Erythrozyten zu verbessern und ihren Stoffwechsel aufrechtzuerhalten, sind die Zellen unter anderem auf Mannitol und Adenin angewiesen (Lanevschi und Wardrop 2001). Das Adenin ist in der Lage in die Erythrozyten einzudringen und es wirkt sich positiv auf den ATP-Gehalt der Zellen aus (Wardrop *et al.* 1994, Kurup *et al.* 2003). Die Zugabe von Glukose stellt eine Energiequelle für die Zellen dar (Sparrow *et al.* 2014). Das Mannitol dient dazu, Radikale abzufangen (Gevi *et al.* 2012) und die Membran zu stabilisieren (Antonelou *et al.* 2010). Es reduziert die osmotisch bedingte Schwellung der Erythrozyten und ist somit hilfreich, das Auftreten der Hämolyse zu vermindern (Wardrop *et al.* 1994, Högman 1998). Unter der Verwendung von SAG-M ist es möglich, das EK über einen Zeitraum von 42 Tagen bei 4 °C zu lagern (Ergül Ekiz *et al.* 2012, Walton 2014).

Überblick über die Physiologie der Blutgerinnung

Primäre Hämostase

Kommt es zur einer Schädigung des Endothels, bindet der von – Willebrand – Faktor (vWF) an die Kollagenfäden (McMichael 2005). Der vWF kommt im Endothel, in Megakaryozyten und in den Granula der Thrombozyten vor (Wagner 1990) und spielt über zwei Wege eine Rolle in der Thrombus Formation (Ruggeri 2003). Zum einen beeinflusst er direkt die Adhäsion von Thrombozyten und der extrazellulären Matrix. Zudem führt er dazu, dass sich die Thrombozyten untereinander vernetzen. Indirekt wirkt der vWF darüber, dass er eine zu schnelle Beseitigung des Faktor VIII aus dem Plasma verhindert. Um den Kontakt zwischen dem vWF und den Thrombozyten herzustellen, verfügen Thrombozyten über diverse Rezeptoren. Zum einen ist dies das Glykoprotein (GP) Ib α , welches ein Bestandteil des GP Ib – IX – V ist. Ein weiterer wichtiger Rezeptor ist im GP IIb – IIIa Komplex enthalten und wird als Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ bezeichnet (Ruggeri 2003).

Thrombozyten binden mithilfe ihres GP Ib α an den vWF. Dies führt dazu, dass die Thrombozyten aktiviert werden und ihre Konformation ändern, welche zur Oberflächenvergrößerung der Thrombozyten führt (Smith *et al.* 2005). Zudem exponieren sie ihren Rezeptor Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (McMichael 2005). Über diesen Rezeptor können Thrombozyten sowohl an den vWF, als auch an das Fibrinogen binden. Durch die Thrombozytenaktivierung kommt es des Weiteren auch zur Degranulation. Thrombozyten enthalten α – und delta – Granula. In den α – Granula befinden sich neben weiteren Inhaltstoffen auch der Faktor V, Faktor VIII, das Fibrinogen und der vWF. Die Delta – Granula enthalten unter anderem Serotonin, ATP, ADP und Ca^{2+} - Ionen. Zudem enthalten die Thrombozyten auch Thromboxan A₂ sowie den plättchenaktivierenden Faktor (McMichael 2005). Die Freisetzung des Granulainhaltes der Thrombozyten fördert die Adhäsion und Aggregation weiterer Thrombozyten. Auf diese Weise entsteht ein Pfropf aus Thrombozyten (Smith *et al.* 2005).

Sekundäre Hämostase

Der Ablauf der sekundären Hämostase wird nach aktuellem Stand durch zwei Modelle erläutert. Zum einen handelt es sich hierbei um die Gerinnungskaskade und zum anderen existiert die von Hoffman und Monroe entwickelte Theorie eines zellbasierten Gerinnungsmodells (Hoffman und Monroe 2001).

Für das Verständnis des Ablaufs der Blutgerinnung unter in vitro Bedingungen lieferte das Kaskadenmodell einen entscheidenden Beitrag (Smith 2009). Traditionell wird die sekundäre Hämostase in einen intrinsischen und extrinsischen Weg eingeteilt, die in einem gemeinsamen Weg münden (Smith *et al.* 2005). Auf der Grundlage dieses Modells basiert auch die Interpretation von Gerinnungstests mithilfe der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und Prothrombinzeit (PT) (Smith *et al.* 2005, Smith 2009). Aufgrund dessen wird im Folgenden auf das Kaskadenmodell näher eingegangen. Ein vereinfachtes Schema der Gerinnung ist in Abbildung 2 (S.14) dargestellt.

Intrinsischer Weg

In vitro erfolgt die Aktivierung des intrinsischen Weges über den Kontakt des Faktors XII mit dem Reagenzglas. In vivo wird der Faktor XII durch negativ geladene Oberflächen wie freie Kollagenfasern aktiviert (Stockham und Scott 2008) sowie durch das Zusammenspiel von Präkallikrein und dem hochmolekularen Kininogen. Dadurch entsteht der Faktor XIIa (a=aktiviert). Sowohl der Faktor XII, als auch das Präkallikrein sind Ca^{2+} unabhängig, sodass es trotz der Verwendung eines Citrat Antikoagulanz zur Aktivierung der Gerinnung im Reagenzglas kommt. Nach der Bildung des Faktors XIIa aktiviert dieser den Faktor XI, sodass der Faktor XIa entsteht. Für diesen Reaktionsablauf ist wiederum das hochmolekulare Kininogen erforderlich. Das Präkallikrein beschleunigt die Reaktion. In einem nächsten Schritt aktiviert der Faktor XIa den Faktor IX (McMichael 2012). Eine weitere Möglichkeit in der Aktivierung des Faktors IX spielt der TF (*tissue factor*) – VIIa – Komplex, welcher den Faktor IX in den Faktor IXa überführt (Smith *et al.* 2005). Die sogenannte Josso – Schleife verdeutlicht, dass in vivo der extrinsische und intrinsische Weg nicht strikt voneinander getrennt sind (Bauer und Moritz 2008). Auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten bilden die Phospholipide zusammen mit dem Faktor VIIIa, Faktor IXa und Ca^{2+} den

sogenannten Tenasekomplex, der den Faktor X in den Faktor Xa überführt (Smith *et al.* 2005, McMichael 2012).

Extrinsischer Weg

Die plasmatische Gerinnung wird durch das Gewebethromboplastin (*Tissue Factor (TF)*) und den Faktor VIIa aktiviert. Der Faktor VII zirkuliert bereits in geringer Menge (1 %) in seiner aktiven Form im Blut und stellt diesbezüglich einen Unterschied zu den anderen Gerinnungsfaktoren dar (Pötzsch und Madlener 2010). Kommt es durch eine Läsion zum Freiliegen des *Tissue Factors*, führt dieser im Zusammenspiel mit Ca^{2+} zur Aktivierung des Faktors VII in den Faktor VIIa. Der TF bildet zusammen mit dem Faktor VIIa, Ca^{2+} und Phospholipiden einen Komplex, der dazu dient den Faktor X in den Faktor Xa umzuwandeln (Stockham und Scott 2008).

Gemeinsamer Weg

Auf der Oberfläche der aktivierten Thrombozyten bilden die Phospholipide zusammen mit dem Faktor Va, Faktor Xa und Ca^{2+} den sogenannten Prothrombinasekomplex, der Prothrombin (FII) in Thrombin überführt (Smith *et al.* 2005, McMichael 2012). Über einen positiven Rückkopplungsmechanismus der zur Verstärkung der Gerinnung führt, aktiviert das Thrombin den Faktor V, Faktor VIII und Faktor XI und führt des Weiteren dazu, dass das Fibrinogen in Fibrinmonomere überführt wird (Smith *et al.* 2005). Aus den Fibrinmonomeren entstehen nach der Aktivierung des Faktors XIII (bedingt durch das Thrombin) die Fibrinpolymere. Der sogenannte rote Thrombus entsteht dadurch, dass sich Erythrozyten im Fibrinnetz verfangen (Bauer und Moritz 2008).

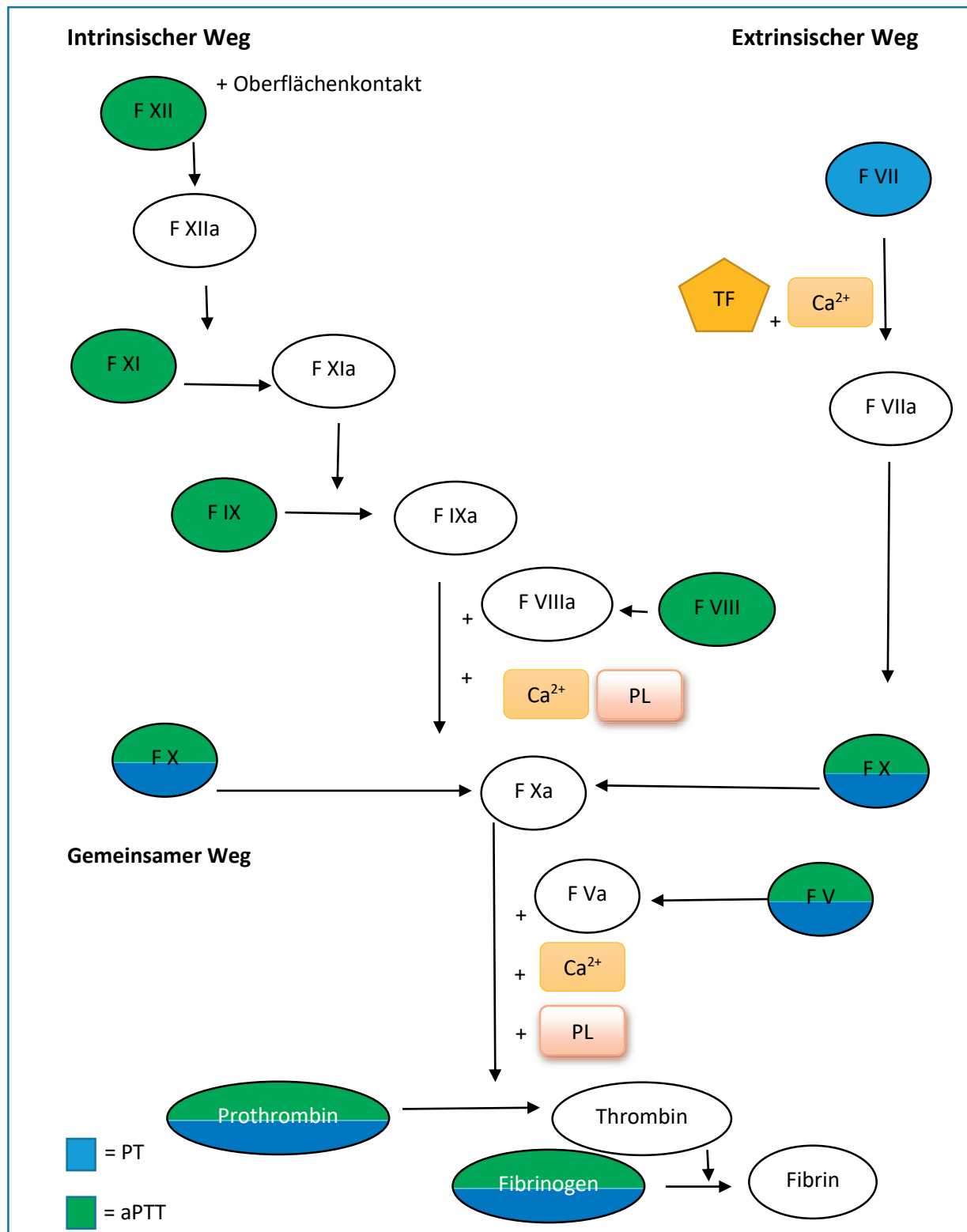


Abbildung 2: Vereinfachtes Schema der Gerinnung sowie der Faktoren der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und Prothrombinzeit (PT)

Gerinnungsinhibition

Gerinnungshemmer wie das Antithrombin spielen eine wichtige Rolle, um eine zu starke Gerinnung zu vermeiden. Die Regulation der Gerinnung dient der Aufrechterhaltung des Gleichgewichtes von Antikoagulation und Koagulation (Smith *et al.* 2005) und gewährleistet die Fließfähigkeit des Blutes (Voigt *et al.* 2016). Das in der Leber gebildete Antithrombin führt zur Hemmung von Thrombin sowie den Faktoren XIIa, XIa, IXa und Xa (Smith *et al.* 2005, Voigt *et al.* 2016). Das Antithrombin blockiert hierbei das aktive Zentrum der Faktoren Xa und IIa über eine kovalente Bindung und führt somit zu deren Inaktivierung (Pötzsch und Madlener 2010). Die von den Endothelzellen synthetisierten Heparansulfat – Proteoglykane haben einen Einfluss auf das Antithrombin. Seine Wirkung wird beschleunigt, wenn die Heparansulfat – Proteoglykane an das Antithrombin binden (Shimada *et al.* 1991).

Neben dem Antithrombin spielen weitere Mechanismen bei der Gerinnung eine Rolle. Auf der Oberfläche von Endothelzellen wird das Thrombomodulin exprimiert. An dieses bindet das Thrombin. Der Komplex aus Thrombomodulin und Thrombin aktiviert das Protein C, welches sich im Plasma befindet. Zusammen mit dem Protein S führt das Protein C zur Hemmung der Gerinnung, indem die Proteolyse von Faktor Va und Faktor VIIIa erfolgt (Esmon 2006). Dies hat Auswirkungen auf die Aktivität des Tenase – und Prothrombinasekomplexes (Pötzsch und Madlener 2010).

Der vom Endothel gebildete *Tissue factor pathway inhibitor* führt zur Hemmung des Faktors Xa sowie des TF – FVIIa – Komplexes und greift auf diese Weise in die Gerinnung ein (Hackeng *et al.* 2009).

Fibrinolyse

Parallel zur Gerinnung wird auch die Fibrinolyse aktiviert, um eine zu starke Fibrinbildung zu vermeiden (Voigt *et al.* 2016). Des Weiteren dient die Fibrinolyse dazu, die Wiederherstellung der physiologischen Gefäßbeschaffenheit zu gewährleisten (Stockham und Scott 2008). Aus dem geschädigten Bereich des Endothels wird der *tissue plasminogen activator* freigesetzt, welcher dazu dient das Plasminogen in das Plasmin umzuwandeln (Harvey 2012). Neben diesem Aktivierungsmechanismus wird das Plasminogen auch durch

die Urokinase aktiviert sowie durch den Faktor XIIa im Zusammenspiel mit dem Kallikrein (Voigt *et al.* 2016). Das entstandene Plasmin bedingt eine Hydrolyse des Fibrins, sodass auf diese Weise Fibrinspaltprodukte wie die D – Dimere entstehen (Nelson und Andreasen 2003, Harvey 2012). Das Plasmin führt des Weiteren auch zum Abbau von Fibrinogen, Faktor VIIIa, Faktor Va, vWF sowie weiteren Faktoren, welche prothrombotische Eigenschaften besitzen (Stockham und Scott 2008). Die Abbauprodukte des Fibrins charakterisieren sich durch antihämostatische Eigenschaften (Harvey 2012) und hemmen die Funktion von Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten (Smith *et al.* 2005).

Gerinnungsuntersuchungen

Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT)

Für die Evaluierung des intrinsischen und gemeinsamen Weges der Blutgerinnung bedient man sich dem Test zur Bestimmung der aktivierten partielle Thromboplastinzeit, aPTT. Das Augenmerk liegt hier auf den Faktoren VIII, IX, XI XII für den intrinsischen Weg sowie auf den Faktoren V, X, dem Prothrombin und Fibrinogen für den gemeinsamen Weg (Herring und McMichael 2012). Um die aPTT ermitteln zu können wird das zu testende Citrat – Plasma auf 37 °C erwärmt und mit Oberflächenaktivatoren (wie Silikaten oder Kaolin) sowie mit Phospholipiden (partiell Thromboplastin) inkubiert. Eine Aktivierung der Gerinnung über den Faktor XIa hinaus wird gehemmt, durch die Chelation des Ca^{2+} über das Citrat. Im Anschluss an eine definierte Inkubationszeit erfolgt die Zugabe von vorgewärmten Kalziumchlorid. Dies dient dazu, dem Effekt des Citrates entgegenzuwirken und ermöglicht eine Fibrinpolymerisation. Die Messung des Fibringerinnsels kann entweder nach elektromechanischen oder optischen Messprinzipien erfolgen. Die aPTT wird als die Zeit definiert, die ab dem Zeitpunkt der Kalziumchloridzugabe bis zur Detektion des Blutgerinnsels verstreicht (Stockham und Scott 2008).

Prothrombinzeit (PT)

Der Test zur Bestimmung der Prothrombinzeit dient der Evaluierung des gemeinsamen sowie des extrinsischen Weges der Blutgerinnung. Er zielt auf das Fibrinogen, Prothrombin sowie auf die Faktoren V, X und VII ab (Herring und McMichael 2012). Für die Testdurchführung zur Ermittlung der PT erfolgt zunächst die separate Erwärmung der Plasma Probe sowie des Calcium – Thromboplastin – Reagenzes. In diesem Reagenz befinden sich der TF und Phospholipide. Nach der Erwärmung wird eine kleine Menge des Reagenzes mit der Plasmaprobe in Kontakt gebracht, sodass es zur Aktivierung der Gerinnung kommt. Auf diese Weise entstehen zunächst Fibrinmonomere die im Anschluss daran polymerisieren. Es bildet sich unlösliches Fibrin, dessen Detektion entweder auf optische oder elektromechanische Weise erfolgen kann. Die Prothrombinzeit wird als die Zeit definiert, die von der Zugabe des Reagenzes bis zur Detektion vom Blutgerinnsels verstreicht (Stockham und Scott 2008).

Faktor VIII und Faktor V

Für die Untersuchung der einzelnen Gerinnungsfaktoren wurden spezielle Assays entwickelt, um der Ursache einer verlängerten aPTT oder PT auf den Grund zu gehen. Mit einem modifizierten PT - Test kann die jeweilige Aktivität für die Faktoren II, FV, FX und des Faktors VII ermittelt werden. Die Aktivität der Gerinnungsfaktoren V, VIII, IX, XI und XII lässt sich jeweils mithilfe eines modifizierten aPTT - Testes ermitteln. Diese Tests werden in Kombination mit einem Mangelplasma – Reagenz durchgeführt. Das Mangelplasma enthält einen Überschuss aller Gerinnungsfaktoren mit Ausnahme des zu bestimmenden Gerinnungsfaktors, welcher entweder nur in einer sehr geringen beziehungsweise nicht nachweisbaren Menge vorliegen darf (Lubas *et al.* 2010).

In einem ersten Schritt erfolgt die Verdünnung (1:10) der zu untersuchenden Plasmaprobe. Das verdünnte Plasma wird mit dem Mangelplasma in Kontakt gebracht. Die Aktivität des betreffenden Faktors in der Probe beeinflusst die Gerinnungszeit des Testansatzes. Die Korrektur der Gerinnungszeit des Mangelplasmas verhält sich proportional zur Aktivität des betreffenden Faktors. Mithilfe von speziesspezifischem Poolplasma (100 % des jeweiligen

Faktors) wird eine Referenzkurve erstellt. Das Ergebnis wird als Prozent der Norm angegeben (Lubas *et al.* 2010).

Fibrinogen

Das Fibrinogen stellt einen Marker für den gemeinsamen Weg der Gerinnung dar. Für die Bestimmung des Fibrinogens im Plasma bedient man sich am häufigsten der Methode nach Clauss (Herring und McMichael 2012). Gemessen wird die Fibrinogenaktivität, welche über eine modifizierte Thrombinzeit nach Clauss (TT_{Clauss}) ermittelt wird. Hierzu wird die Plasmaprobe zunächst verdünnt und im Anschluss daran eine erhöhte Konzentration an Thrombin hinzugefügt. Anhand von Proben mit bekanntem Fibrinogen wird eine Referenzkurve erstellt anhand derer die TT_{Clauss} für die zu untersuchende Probe ermittelt wird. Die TT_{Clauss} verhält sich antiproportional zum Fibrinogen. Es ist zu berücksichtigen, dass die TT_{Clauss} in Sekunden angegeben wird, wohingegen die Fibrinogenwerte in $\mu\text{mol/L}$ oder in mg/dL angegeben werden und sich die Werte über die Referenzkurve ablesen lassen (Stockham und Scott 2008).

Antithrombin

Die Untersuchung des Antithrombins im Plasma erfolgt vorwiegend auf Grundlage von funktionellen Messprinzipien. Daneben besteht die Möglichkeit, das Antithrombin über immunologische Methoden zu bestimmen, jedoch liefert diese Methode keine Hinweise bezüglich der Funktionalität des Antithrombins. Bei der Testdurchführung wird ein Reagenz, welches Heparin enthält mit dem Plasma in Kontakt gebracht. Je nachdem welche Methodik Anwendung findet, wird des Weiteren ein Überschuss des Faktors Xa oder des Thrombins sowie chromogenes Substrat für den Faktor Xa beziehungsweise für das Thrombin hinzugegeben. Das Antithrombin in der Probe beeinflusst die Aktivität vom Faktor Xa sowie vom Thrombin. Mittels Photometrie erfolgt die Detektion eines Farbumschlages. Ein geringer Farbumschlag ist zurückzuführen auf eine geringe Aktivität des Faktors Xa oder des Thrombins, da vermehrt Antithrombin in der Probe vorhanden ist. Die Units stellen die prozentuale Aktivität der Probe dar, die mit einem speziesspezifischen

Poolplasma verglichen wird. Dieser Plasmapool weist eine 100 % ige Aktivität auf (Stockham und Scott 2008).

vWF – Antigen Test

Mithilfe des vWF – Antigen Tests wird die Konzentration an vWF innerhalb der Probe bestimmt. Es handelt sich hierbei um einen quantitativen *Enzyme – linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. In der Veterinärmedizin wird der Test zur vWF-Antigen Bestimmung vorwiegend mithilfe dieser Methode durchgeführt. Unter der Verwendung von anti – vWF Antikörpern wird die Menge des vWF – Antigens ermittelt (Herring und McMichael 2012). Die Ergebnisse werden in Prozent angegeben. Als Vergleichswert dient speziesspezifisches Poolplasma (100 % von – Willebrand – Faktor – Antigen (vWF : Ag)). Werte unterhalb von 50 % zeigen eine verminderte Konzentration des von – Willebrand – Faktors an (Stockham und Scott 2008).

Kapillarzonenelektrophorese/Eiweißelektrophorese

Eine Elektrophorese wird verwendet um die einzelnen Proteinfaktionen, als auch ihre Quantität bestimmen zu können. Das Verfahren ermöglicht die Auftrennung der Proteine in Abhängigkeit ihrer jeweiligen elektrischen Ladung und Größe (Tappin *et al.* 2011). Mithilfe der Elektrophorese lassen sich fünf bzw. sechs Fraktionen an Proteinen darstellen. Neben dem Albumin handelt es sich hierbei um die α_1 –, α_2 –, β_1 –, β_2 – und die γ – Globuline (Abate *et al.* 2000, Crivellente *et al.* 2008).

Die Elektrophorese wird vor allen Dingen für Proben aus Serum verwendet, jedoch kann sie auch mit einer Plasmaprobe durchgeführt werden (Tothova *et al.* 2016). Der Grund weshalb vorwiegend Serumproben verwendet werden liegt darin begründet, dass es anders als Plasma kein Fibrinogen enthält. Im Elektropherogramm erschwert das Fibrinogen die klare Trennung der β – und γ – Region, weil sich das Fibrinogen dazwischen lagert (Rossi *et al.* 2008, Errico *et al.* 2012, Tothova *et al.* 2016). Nach Errico *et al.* ergeben die elektrophoretischen Analysen von Serum und Plasma dieselbe diagnostische Information. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass es bei Plasma zur einer Überschätzung der β –

Globulin Fraktion kommen kann (Errico *et al.* 2012). Andere Wissenschaftler wie Martínez-Subiela *et al.* konnten nach der Durchführung der Kapillarzonenoelektrophorese keinen Peak im Elektropherogramm zwischen der β – und γ – Region nachweisen (Martínez-Subiela *et al.* 2002).

Die Kapillarelektrophorese stellt eine Alternative zu anderen Elektrophoreseverfahren dar. Dies begründet sich in der geringen benötigten Probenmenge, ihrer schnellen Durchführbarkeit, guten Aufspaltung und Präzision (Crivellente *et al.* 2008). Sie findet aufgrund ihrer technischen Vorteile auch Anwendung in der Veterinärmedizin (Giordano und Paltrinieri 2010).

Beim Verfahren der Kapillarzonenoelektrophorese findet die Auftrennung der einzelnen Proteinfractionen in einer Quarzglas Kapillare innerhalb eines flüssigen Mediums statt (Bossuyt 2003). Diese Kapillare enthält Silanolgruppen und weist eine negative Ladung auf, wenn ein pH – Wert von 10 vorliegt. Die sich in der Elektrolytlösung befindlichen Kationen lagern sich unter Anlegung einer elektrischen Spannung an die Wand der Kapillare an und wandern in Richtung Kathode. Auf diese Weise erzeugen sie einen elektroosmotischen Fluss in Richtung der Kathode und ziehen die Elektrolytlösung mit sich (Bossuyt 2003). Die Proteine trennen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften auf (Tothova *et al.* 2016). Je nach der Größe und Ladung der Proteine werden negativ geladene Proteine von der Anode angezogen. Die γ – Globuline haben eine geringere negative Ladung im Vergleich zum Albumin. Aus diesem Grunde wandert das Albumin im Unterschied zu den γ – Globulinen verzögert mit dem elektroosmotischen Fluss mit und wird am kathodenseitig angebrachten Detektor erst später detektiert. Die Quantifizierung und Detektion der Proteine ergibt sich aus der Absorption des UV – Lichtes (Bossuyt 2003). Die „Peaks“ die während der Elektrophorese graphisch dargestellt werden, stellen die unterschiedlichen Proteinfractionen dar (Zaias *et al.* 2009).

Albumin und Globuline

Beim Albumin handelt es sich um ein Protein mit einem Molekulargewicht von 69 Kilodalton und einem Durchmesser von 36 nm (Brunker 2005). Das Albumin und ein Großteil der Globuline werden in der Leber synthetisiert, wohingegen die Immunglobuline von B – Lymphozyten und Plasmazellen gebildet werden. Die Plasmaproteine weisen verschiedene Funktionen auf. Dazu zählt die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Druckes, vorwiegend durch das Albumin. Des Weiteren haben Plasmaproteine eine Pufferfunktion und dienen als Transportmedium für diverse Stoffe (McGrotty und Knottenbelt 2002). Wie bereits erwähnt gibt es unterschiedliche Fraktionen an Proteinen, die wiederum aus unterschiedlichen Proteinen zusammengesetzt sind. Die Fraktion der α_1 – Globuline beinhaltet beispielsweise das α_1 – Lipoprotein, das α_1 – Antitrypsin und das α_1 – Antichymotrypsin. Zur Gruppe der α_2 – Globuline lassen sich das Haptoglobin sowie das α_2 – Makroglobulin zuordnen (Stockham und Scott 2008). Zur Fraktion der β – Globuline gehören unter anderem Lipoproteine, das Transferrin, die Immunglobuline A und M sowie Komplementkomponenten (Tappin *et al.* 2011). Die γ – Globuline bestehen hauptsächlich aus Immunglobulinen und dienen der Körperabwehr (Tothova *et al.* 2016). Zu ihrer Gruppe zählen neben dem C – reaktiven Protein die Immunglobuline E und G (Tappin *et al.* 2011).

Erythrozyten

Bei Erythrozyten handelt es sich um rote Blutzellen die Hämoglobin enthalten (Morera und MacKenzie 2011). Sie charakterisieren sich durch die Form einer bikonkaven Scheibe und weisen eine hohe Verformbarkeit auf. Diese spielt eine wichtige Rolle für den Blutfluss (Guest *et al.* 1963).

Die Hauptfunktion der Erythrozyten liegt im Austausch von diversen Gasen. Sie stellen ein wichtiges Transportmedium von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid dar. Neben dieser Hauptfunktion kommen Erythrozyten weitere Funktionen zu, wie beispielsweise die der Redox-Homöostase (Morera und MacKenzie 2011).

Hämoglobin und seine Wechselwirkung mit O₂ und CO₂

Das Hämoglobin besteht aus vier Polypeptidketten die sich in zwei α – und zwei β – Ketten einteilen lassen. Jede Polypeptidkette besitzt eine Häm – Gruppe (Marengo-Rowe 2006). Das Hämoglobin liegt in unterschiedlichen Konformationen vor. In der R – (*relaxed*) Form zeigt das Hämoglobin eine hohe Affinität zur Bindung von O₂. Das Desoxyhämoglobin hingegen liegt in der T – (*tense*) Form vor und hat eine geringe Affinität zur O₂ – Bindung (Lukin und Ho 2004, Jensen 2004). Eine hohe Affinität des Hämoglobins für O₂ führt zur einer erleichterten O₂ – Aufnahme in der Lunge, führt jedoch zur einer erschwerten Abgabe an das Gewebe. Eine verringerte Affinität des Hämoglobins für O₂ resultiert hingegen in einer erleichterten Sauerstoffabgabe an das Gewebe (Morgan 1999).

Die sogenannte Sauerstoffbindungskurve bildet den Zusammenhang zwischen der Sauerstoffsättigung auf der Y-Achse und dem O₂ – Partialdruck auf der X-Achse graphisch ab. Sie ist durch einen sigmoidalen Verlauf charakterisiert (Morgan 1999). Der Verlauf der Sauerstoffbindungskurve ist auf die Konformationsänderung des Hämoglobins unter der O₂ – Anlagerung zurückzuführen. Die Anlagerung des ersten O₂ – Moleküls an das desoxygenierte Hämoglobin bedingt eine Konformationsänderung der betreffenden Polypeptidkette. Diese hat einen Einfluss auf die anderen drei Polypeptidketten, welche als Resultat dessen eine erhöhte Sauerstoffaffinität aufweisen. Dieser Vorgang wird als Kooperativität bezeichnet. Unter dem Begriff des Halbsättigungspartialdrucks (P₅₀) ist der Sauerstoffpartialdruck (pO₂) zu verstehen, der notwendig ist um eine fünfzigprozentige Sättigung des Hämoglobins zu erzielen (Gros 2009). Aufgrund rassebedingter Unterschiede ist der P₅₀ beim Hund sehr variabel. Dies ist vermutlich auf strukturelle Unterschiede sowie auf die Vielfältigkeit der β – Kette (Clerbaux *et al.* 1993), als auch der α – Kette bei den unterschiedlichen Hunderassen zurückzuführen (Cambier *et al.* 2004). Die Position der Sauerstoffbindungskurve bestimmt die O₂ – Abgabe an das Gewebe und die O₂ – Aufnahme in der Lunge (Cambier *et al.* 2004). Allosterische Veränderungen innerhalb des Hämoglobinmoleküls beeinflussen die Sauerstoffbindung am Hämoglobin und resultieren in einer Verschiebung der Sauerstoffbindungskurve (Morgan 1999). Der Bohreffekt beschreibt den Einfluss vom pH-Wert und dem Kohlendioxidpartialdruck (pCO₂). Das Kohlenstoffdioxid sowie Protonen binden bevorzugt an das Desoxyhämoglobin (Tyuma 1984). Ein geringer pH – Wert resultiert somit in einer geringeren O₂ – Affinität des Hämoglobins (Storz und

Moriyama 2008), ebenso wie ein Anstieg der CO_2 – Konzentration (Zheng *et al.* 2013). Des Weiteren wird die Sauerstoffbindungsaffinität des Hämoglobins über das 2,3 – Diphosphoglycerat (2,3 – DPG) beeinflusst (Cambier *et al.* 2004). Es handelt sich hierbei um einen erythrozytären Energiespeicher (van Wijk und van Solinge 2005), als auch um einen Phosphatspeicher (Ikura *et al.* 1976). Das 2,3 – DPG führt zur Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve (Willer und Riedesel 1985).

Die Wechselwirkung des CO_2 mit dem Erythrozyten wird im Folgenden näher beschrieben. Das aus dem Gewebe entlassene CO_2 dringt über die Diffusion in den Erythrozyten ein. Im Inneren des Erythrozyten ist die Carboanhydrase lokalisiert. Diese katalysiert die Umwandlung von CO_2 und Wasser (H_2O) zu Bicarbonat (HCO_3^-) und Protonen (H^+). Der Großteil des HCO_3^- wird nach extrazellulär transportiert, wobei Chlorid – Ionen in das Zellinnere befördert werden. Das Hämoglobin ist dazu in der Lage, einen kleinen Teil des CO_2 als Carbamat an sich zu binden. Dies hat einen Einfluss auf die O_2 – Bindung des Hämoglobins (Bårdgard und Brix 1997). Die Aufnahmefähigkeit des Blutes für CO_2 wird durch desoxygeniertes Blut gesteigert. Dieser Mechanismus wird als Haldane – Effekt bezeichnet und spielt eine Bedeutung bei der O_2 – Abgabe an das Gewebe und der dortigen Aufnahme von CO_2 (Gros 2009).

Metabolismus der Erythrozyten

Im Rahmen der Glykolyse (Embden – Meyerhof – Weg) entstehen aus einem Glukosemolekül zwei Moleküle ATP sowie zwei Moleküle Laktat. Aufgrund der Tatsache, dass Erythrozyten keine Mitochondrien besitzen stellt der Embden – Meyerhof – Weg die einzige Möglichkeit dar ATP zu synthetisieren (Weiss und Wardrop 2010). Die Hexokinase, Phosphofructokinase und die Pyruvatkinase sind hierbei die geschwindigkeitsbestimmenden Enzyme der Glykolyse (Mueggler *et al.* 1980). Die Glykolyse ist durch sich ändernde pH-Werte beeinflussbar. Ein gesteigerter pH-Wert führt zu einer erhöhten Glykolyse. Es kommt zur vermehrten Bildung von 1,3- Diphosphoglycerat (1,3 – DPG) und somit zu einer Steigerung von 2,3 – DPG (Mueggler *et al.* 1980). Das 2,3 – DPG wird im Rahmen des Rapoport – Luebering – Zyklus gebildet. Hierfür ist die 2,3 – Diphosphoglyceromutase (2,3 – DPGM) verantwortlich, welche ein multifunktionales Enzym

darstellt (Mueggler und Black 1982). Die Bildung von 2,3 – DPG wird durch unterschiedliche Faktoren beeinflusst. Stimuliert wird seine Bildung wie erwähnt durch einen erhöhten pH – Wert des Blutes sowie durch eine Steigerung des anorganischen Phosphat Gehaltes (Harvey 2012).

Metabolismus der Erythrozyten außerhalb physiologischer Bedingungen

Durch die Lagerung des Erythrozytenkonzentrates sind die Zellen veränderten Bedingungen ausgesetzt. Zum einen sind die Lagerungstemperaturen geringer, als unter physiologischen Bedingungen und zum anderen handelt sich um ein geschlossenes System. Während der Lagerung unterliegen Erythrozyten metabolischen, strukturellen sowie funktionellen Veränderungen. Diese treten trotz der Anwesenheit von Additivlösungen auf und werden unter dem Begriff der Lagerungsschäden („*storage lesions*“) zusammengefasst (Price *et al.* 1988, Hess 2010, Ergül Ekiz *et al.* 2012, Blasi *et al.* 2012, Gevi *et al.* 2012, Lacerda *et al.* 2014). Die Lagerungsschäden die während der Lagerung humaner Blutprodukte auftreten sind vielfältig beschrieben, wohingegen ihre Beschreibung in der Veterinärmedizin äußerst rar ist. Laut Lacerda *et al.* sind die in der Humanmedizin beschriebenen Lagerungsschäden mit denen in caninen Blutprodukten vergleichbar (Lacerda *et al.* 2014).

Die lagerungsbedingten metabolischen, strukturellen und funktionellen Veränderungen der Zellen werden im Folgenden näher erläutert. Während der Lagerung schreitet der Metabolismus fort (Höglman 1998). Durch die weiterhin stattfindende Verstoffwechselung der Glukose kommt es zur Anhäufung von Pyruvat, Laktat und Protonen. Es bildet sich ein saures Medium, da es zum Absinken des pH – Wertes kommt (Willer und Riedesel 1985, Hess 2010, Ergül Ekiz *et al.* 2012). Die Protonen haben eine hemmende Wirkung auf zwei wichtige Enzyme der Glykolyse, die Hexokinase und Phosphofruktokinase. Auf diese Weise wird weniger ATP gebildet. Die Azidose führt folglich dazu, dass die Glykolyserate verlangsamt wird. (Hess 2010).

Der oben beschriebene Abfall des pH – Wertes bringt weitere Veränderungen mit sich. Er führt auch zur einer verminderten Bildung von 2,3 – DPG (Ergül Ekiz *et al.* 2012, Lacerda *et al.* 2014). Das 2,3 – DPG spielt eine Schlüsselrolle für die Sauerstoffbindung und

Sauerstoffabgabe über das Hämoglobin. Das 2,3 – DPG steigert seine Häm – Häm – Wechselwirkung und senkt die O₂ – Affinität des Hämoglobins (Benesch und Benesch 1967). Durch das Absinken des 2,3 – DPG Gehaltes verschiebt sich die Sauerstoffbindungskurve nach links. Dies hat zur Folge, dass das O₂ schlecht vom Hämoglobin abgegeben werden kann (Willer und Riedesel 1985). Dieser Lagerungsschaden hat somit einen Einfluss auf die Sauerstoffabgabe und wirkt sich auf die Funktionalität der Zelle aus (Blasi *et al.* 2012).

Eine zu lange Lagerungsdauer der Erythrozyten in einer Blutbank resultiert in einer Verminderung des ATP – Gehaltes, sodass die physiologische Erythrozytenform durch das Enzym Flippase nicht mehr eingehalten werden kann (Devaux *et al.* 2008). Die Tatsache, dass sich das Phosphatidylserin nun auf die äußere Membranseite hin verlagert, führt zu Membranveränderungen der Erythrozyten, beeinflusst die Morphologie der Zellen und bringt proinflammatorische und prokoagulatorische Eigenschaften mit sich (Solheim *et al.* 2004, Hess 2010, Blasi *et al.* 2012). Die Formveränderungen der Erythrozyten können reversibler oder irreversibler Natur sein. Es entstehen Echinozyten, Stomatozyten sowie Sphärozyten und Ovalozyten (Blasi *et al.* 2012).

Die oben beschriebene Abnahme des ATP – Gehaltes führt weiterhin dazu, dass weitere Zellinhaltsstoffe freigesetzt werden, weil die Natrium – Kalium – ATPase funktionsunfähig wird. Dies führt dazu, dass sich Natrium (Na⁺) Ionen über die semipermeable Membran im Zellinneren anreichern, wohingegen sich Kalium (K⁺) Ionen außerhalb der Zelle ansammeln (Ergül Ekiz *et al.* 2012, Adams *et al.* 2015). Weitere Veränderungen, die während der Lagerung eintreten sind die Bildung von Mikrovesikeln sowie die Freisetzung von freiem Hämoglobin (Hess 2010, Hess 2014). Eine Schädigung der Zelle führt darüber hinaus auch zur Freisetzung der Laktatdehydrogenase (LDH) (Marconato *et al.* 2009, Chaudhary und Katharia 2012).

Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Im Rahmen dieses Dissertationsprojektes werden zwei Methoden zur Separierung von Vollblut in Plasma und Erythrozytenkonzentrat bzgl. der Produktqualität nach der Herstellung bzw. Lagerung näher untersucht. Es handelt sich zum einen um die herkömmliche Vollblutzentrifugation und zum anderen um die Separation mittels Hohlfasersystem (3M™ Blood Separation System der Firma 3M Deutschland GmbH). Ziel ist es, die Qualität der einzelnen Produkte durch Untersuchung diverser Laborparameter zu ergründen. Des Weiteren werden die unterschiedlichen Methoden zur Vollblutseparation miteinander verglichen, um eine Einschätzung zu erhalten wie effektiv die jeweiligen oben beschriebenen Methoden sind und wie hochwertig die Qualität der erzeugten Produkte ist. Die Prüfparameter umfassen je nach Produkt die Parameter der Gerinnung, der klinischen Chemie, Hämatologie und des Säure-Base-Status. Die Gerinnungsparameter umfassen neben der Prothrombinzeit und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit das Fibrinogen, die Faktoren V, VIII, das von-Willebrand-Faktor-Antigen sowie das Antithrombin III. Die Parameter der klinischen Chemie beinhalten das Totalprotein, das Albumin, die Globuline, Phosphor und Kalium sowie die Laktatdehydrogenase. Die hämatologischen Parameter umfassen den Hämatokrit, das Hämoglobin, das MCV (mean corpuscular volume), MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration), das CHCM (cell hemoglobin concentration mean), die Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten. Die Blutgasanalyse erfasst die Konzentration an Glukose, Laktat, den Sauerstoff- und Kohlendioxidpartialdruck sowie den pH-Wert. Das Nettovolumen und die visuelle Prüfung sind ebenfalls Gegenstand der Untersuchung.

Material und Methoden

Blutspender

Voraussetzungen des Blutspenders

Um sich als Blutspender zu eignen musste der Hund klinisch gesund sein, regelmäßig geimpft und entwurmt sowie regelmäßig gegen Ektoparasiten behandelt worden sein. Weitere Grundvoraussetzungen waren kein Auslandsaufenthalt, ein Körpergewicht von mindestens 20 Kilogramm, ein Alter zwischen 1 und 10 Jahren sowie bei Hündinnen keine Trächtigkeit. Zudem durfte der Blutspender zuvor kein Blutprodukt selbst erhalten haben. Zeigten sich bei der allgemeinen klinischen Untersuchung und bei der weiteren Überprüfung des Gesundheitsstatus durch die Blutuntersuchung keine Auffälligkeiten, wurde der Hund für die Studie zugelassen. Ausschlusskriterien für die Studie waren von der Norm abweichende Befunde der oben genannten Parameter.

Alle Blutspender der vorliegenden Studie nahmen am freiwilligen Blutspendeprogramm der Klinik für Kleintiere der Justus – Liebig – Universität Gießen im Zeitraum von Februar bis Juni 2017 teil (Geschäftszeichen der Tierversuchsanzeige A54/2012). Insgesamt standen 32 Hunde unterschiedlichster Rassen und Geschlechtes als Blutspender zur Verfügung, die randomisiert auf die Gruppen Hohlfasersystem und Zentrifuge zugeteilt wurden.

Vorbereitung und Blutentnahme beim Spender

Nach eingehender Anamnese des Besitzers wurde jeder Hund einer allgemeinen klinischen Untersuchung unterzogen. Zur Überprüfung des Gesundheitsstatus erfolgte eine Blutentnahme an der Vena cephalica antebrachii, beziehungsweise an der Vena saphena. Dazu wurde der Hund an der betroffenen Stelle geschoren und der Bereich sorgfältig mit Isopropyl-Alkohol¹ desinfiziert. Unter manueller Venenstauung wurde eine 1,0 x 32 mm

¹ Isopropyl-Alkohol, Henry Schein VET GmbH, Hamburg, Deutschland

rosa Venenverweilkanüle² (Größe 20 G) in die Vene eingebracht und dort mithilfe von Fixiervlies³ befestigt. Über diese Venenverweilkanüle erfolgte die Blutabnahme. Das Blut wurde in 2 Serum - Röhrchen⁴, 4 Citrat - Röhrchen⁵, 2 Heparin - Röhrchen⁶ und 4 Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) - Röhrchen⁷ abgenommen. Während der Abnahme wurde auf eine ordnungsgemäße Füllung der einzelnen Probenröhrchen geachtet und diese nach der Befüllung geschwenkt. Im Anschluss an die Blutabnahme wurde ein Mandrin⁸ in den Venenkatheter eingeführt und dieser anschließend mit einer Polsterbinde⁹ und einem elastischen Verband¹⁰ umwickelt.

Verarbeitung der Blutproben des Spenders

Die Untersuchungen der Blutproben erfolgte in Zusammenarbeit mit den im Zentrallabor des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen tätigen technischen Mitarbeiter/innen. Dort wurde die Hämatologie der EDTA-Blutprobe mithilfe des ADVIA® 2120¹¹ sowie die Blutgruppenbestimmung mittels Quick Test¹² durchgeführt. Des Weiteren erfolgten Untersuchungen zur klinischen Chemie sowie zur Einzelparameterbestimmung am Gerät ABX Pentra 400¹³.

Die Blutproben in den Citrat - und Serum - Röhrchen wurden wie folgt weiterverarbeitet. Die ersten drei Citrat - Röhrchen wurden 5 Min bei 5800 RPM (*revolutions per minute*) zentrifugiert (Zentrifuge¹⁴). Der Überstand wurde ab-pipettiert und in neue

² KLINIJECT® Venenverweilkanüle, KLINIKA Medical GmbH, Usingen, Deutschland

³ Omniflix® elastic, Hartmann, Wiener Neudorf, Österreich

⁴ Mikro-Probengefäß 1,3 ml Serum, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

⁵ Mikro-Probengefäß 1,3 ml Citrat 3,2%, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

⁶ Mikro-Probengefäß 1,3 ml Lithium-Heparin, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

⁷ Mikro-Probengefäß 1,3 ml EDTA KE, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland

⁸ 1 MANDRIN FÜR KLINIJECT, KLINIKA Medical GmbH, Usingen, Deutschland

⁹ NOBAPAD®, NOBAMED Paul Danz AG, Wetter/Ruhr, Deutschland

¹⁰ EickWrap, Eickemeyer - Medizintechnik für Tierärzte KG, Tuttlingen, Deutschland

¹¹ ADVIA® 2120, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland

¹² Quick Test Blood Typing – Canine, Alvedia, Limonest, Frankreich

¹³ ABX Pentra 400, HORIBA ABX SAS, Montpellier, Frankreich

¹⁴ MIKRO 20, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland

Mikroröhrchen¹⁵ überführt, welche ein weiteres Mal unter denselben Bedingungen zentrifugiert wurden. Der Überstand wurde wieder ab-pipettiert und in neue Mikroröhrchen gegeben. Die Proben wurden zunächst bei – 20 °C für 24 h und später bei – 80 °C tiefgefroren.

Jeweils ein Citrat – Röhrchen sowie ein Serum - Röhrchen wurden einmal zentrifugiert (1 Min, 10000 RPM). Der Überstand wurde jeweils ab-pipettiert und in neue Röhrchen überführt. Diese Proben wurden für die Durchführung der Elektrophorese in ein Fremdlabor zur Firma BIOCONTROL¹⁶ geschickt.

Durchführung der Blutspende

Im Anschluss an die Überprüfung der Laborparameter des Blutspenders und der Sicherstellung des Gesundheitsstatus wurde der Spender in Seitenlage auf den Untersuchungstisch platziert. Es folgte das Scheren des Bereiches für die Blutabnahme an der Vena jugularis. Anschließend wurde die Haut mit Isopropyl-Alkohol¹⁷ und im Anschluss daran mit Braunoderm¹⁸ desinfiziert. Der Citrat – Phosphat – Dextrose (CPD) Beutel des 3M™ Blood Separation Systems¹⁹ wurde vor der Blutabnahme auf eine Blutwaage²⁰ gelegt, um während der Blutabnahme die abgenommene Blutmenge exakt kontrollieren zu können. Des Weiteren diente die Blutwaage zur kontinuierlichen Durchmischung (30 mal / Min) des Vollblutes mit denen sich im Beutel befindlichen 63 ml CPD. Die Blutwaage wurde seitlich unterhalb des Blutspenders platziert, sodass das Blut später der Schwerkraft folgend in den Blutbeutel fließen konnte. Vor der Blutabnahme wurde der Predonation Beutel des 3M™ Blood Separation Systems abgetrennt, um dort die Blutgasentnahmevorrichtung²¹ anzuschließen. Nach manueller Stauung wurde mit der

¹⁵ Mikroröhre 2 ml mit Verschluss, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland

¹⁶ BIOCONTROL, Ingelheim, Deutschland

¹⁷ Isopropyl-Alkohol, Henry Schein VET GmbH, Hamburg, Deutschland

¹⁸ Braunoderm®, B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

¹⁹ 3M™ Blood Separation System, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland

²⁰ BIOTRANS MW 5001 electronic, BIOTRANS GmbH Dreieich

²¹ Blutgasentnahmevorrichtung, KLINIKA Medical GmbH, Usingen, Deutschland

Blutabnahme über die Entnahmekanüle des Systems begonnen. Parallel dazu erhielt der Blutspender über ein Infusionsset²² und unter Verwendung eines Infusomaten²³ 10 ml/kg/h Sterofundin® ISO Infusionslösung²⁴ über die bereits liegende Venenverweilkanüle infundiert.

Über die angeschlossene Blutgasentnahmevorrichtung erfolgte die Blutentnahme für die Blutgasanalyse (BGA), welche nach der Blutspende am Cobas b 221 System²⁵ durchgeführt wurde. Im Anschluss daran floss das Blut in den Vollblutbeutel, bis dieser mit ca. 450 ml Blut gefüllt war. Die Entnahmekanüle wurde entnommen und die Vene mehrere Minuten mit BraunoI®²⁶ getränkten Kompressen²⁷ abgedrückt. Im Rahmen der Blutspende wurde der Zeitpunkt der Blutentnahme sowie die Dauer dokumentiert.

Methoden

Filtration

Das 3M™ Blood Separation System²⁸ besteht aus mehreren Beuteln und beinhaltet einen Leukozytendepletionsfilter sowie einen Plasmafilter (Abbildung 3) (3M Deutschland GmbH, 2016).

Vor der Blutabnahme des Patienten wurde das 3M™ Blood Separation System soweit wie möglich für die Separation vorbereitet.

An den Plasmafilter wurden die einzelnen Schraubverschlüsse angebracht und der SAG-M Beutel über den blauen Schraubverschluss am Plasmafilter angeschlossen. Der Beutel wurde auf der gleichen Höhe des Plasmafilters angebracht. Die Befestigung des Plasmabeutels erfolgte unterhalb des Plasmafilters über den farblosen Schraubverschluss.

²² Infusionsset für Lösungen, Baxter Healthcare SA, Zürich, Schweiz

²³ Volumetric infusion pump, Caesarea Industrial Park, Israel

²⁴ Sterofundin®, ISO 1/1 E ISO, B. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland

²⁵ Cobas b 221 System, Roche Deutschland Holding GmbH

²⁶ BraunoI®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

²⁷ ES-Kompressen, PAUL HARTMANN AG, Heidenheim, Deutschland

²⁸ 3M™ Blood Separation System, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland

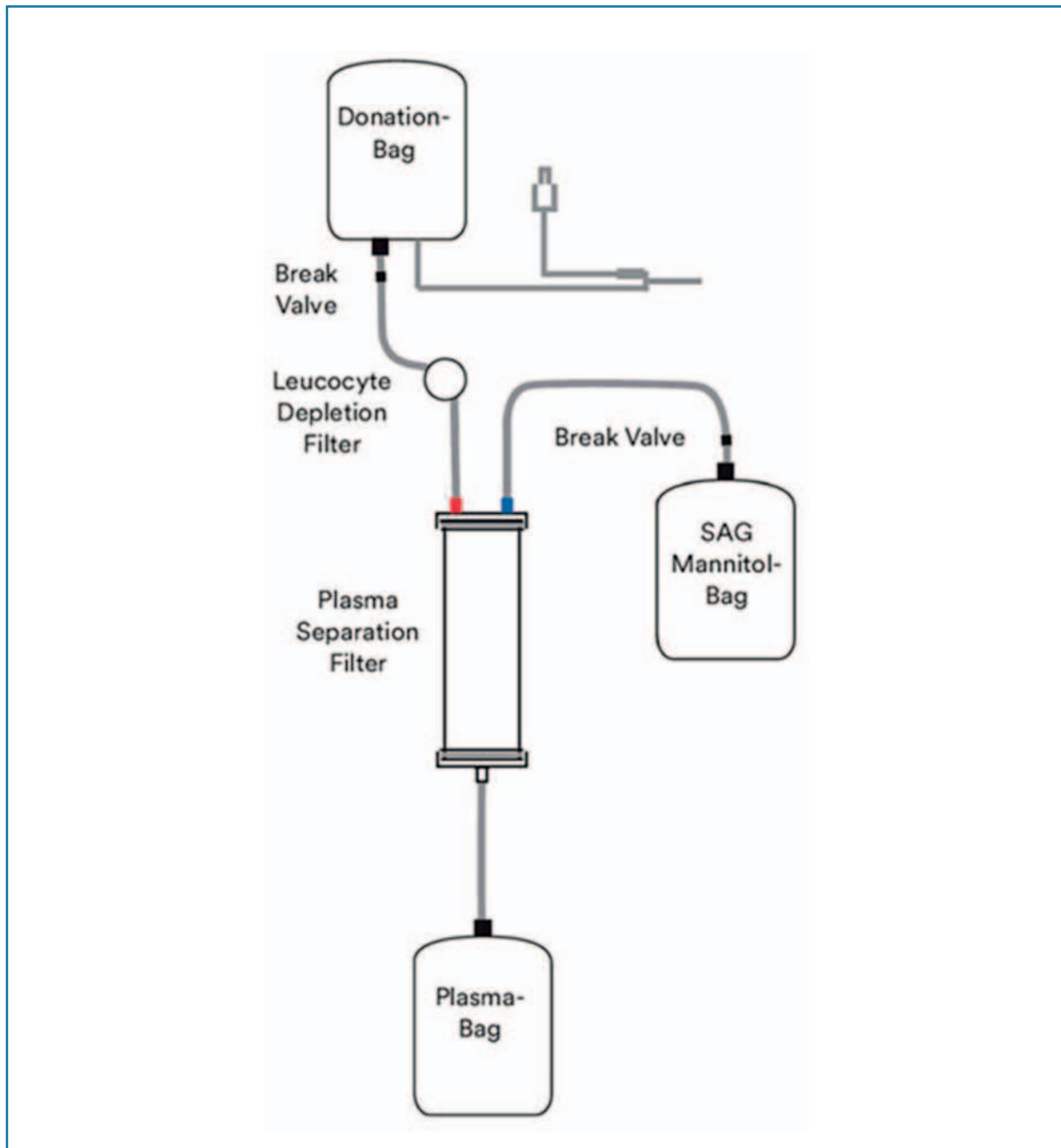


Abbildung 3: Schematische Darstellung des 3M™ Blood Separation Systems (mit freundlicher Genehmigung von 3M Deutschland GmbH)

Nachdem das Blut in den Vollblutbeutel abgenommen wurde erfolgte seine Aufhängung mit dem sich anschließenden Leukozytendepletionsfilter, sodass sich beide Komponenten

oberhalb des Plasmafilters befanden. Das Schlauchende nach dem Leukozytendepletionsfilter wurde auf das rote Verbindungsstück des Plasmafilters aufgeschraubt und auf diese Weise mit den oben beschriebenen Komponenten des Systems in Verbindung gebracht.

Für die Entnahme der Proben aus dem Vollblutbeutel wurde der Schlauch an welchem sich die Entnahmekanüle befand durchtrennt und eine kleine Menge Vollblut in den Schlauch überführt. Unter Zuhilfenahme einer 20 ml Spritze²⁹ erfolgte die Entnahme von ca. 15 ml Vollblut aus dem System (→ siehe "Probenverarbeitung aus dem Vollblutbeutel").

Nach Abnahme der Vollblutprobe wurde das System durch die Aktivierung der Bruchventile gestartet. Infolgedessen floss das Blut zunächst durch den Leukozytendepletionsfilter. Im Anschluss daran passierte es den Plasmafilter. Die im Plasmafilter enthaltene MicroPES® TF 10 Kapillarmembran (Abbildung 4) diente der Separation von Plasma und Zellen (3M Deutschland GmbH 2016). Die Kapillarmembran besteht aus Polyethersulfon mit einer Wanddicke von $100\text{ }\mu\text{m} \pm 25\text{ }\mu\text{m}$. Die Hohlfaser weist einen Innendurchmesser von $300\text{ }\mu\text{m} \pm 40\text{ }\mu\text{m}$ auf. Die maximale Porengröße beträgt $0,5\text{ }\mu\text{m} \pm 0,1\text{ }\mu\text{m}$ (3M Deutschland GmbH). Die MicroPES® TF 10 Kapillarmembran ist im System in Form einer Schlaufe angeordnet (Abbildung 5). Mithilfe der Schwerkraft erfolgte hier die Auftrennung in zellfreies Plasma und Erythrozytenkonzentrat. An der Krümmung der MicroPES® TF 10 Kapillarmembran erfolgte der Austritt von separiertem Plasma (3M Deutschland GmbH 2016).

²⁹ BD Discardit™ II, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland

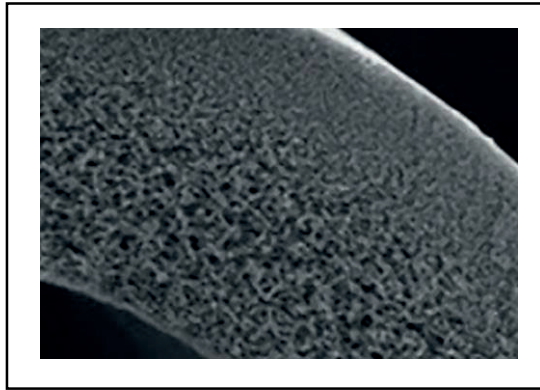


Abbildung 4: Rasterelektronenmikroskopisches Bild der Kapillarmembran (mit freundlicher Genehmigung von 3M Deutschland GmbH)

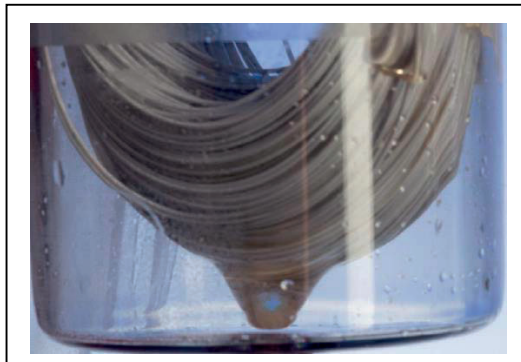


Abbildung 5: Austritt von Plasma aus der Kapillarmembran

(mit freundlicher Genehmigung von 3M Deutschland GmbH)

Laut Hersteller beträgt die Dauer zur Separation der einzelnen Blutkomponenten maximal 90 Minuten (3M Deutschland GmbH 2016). Das Plasma floss nach dem Filter weiter in den Plasmabeutel und das Erythrozytenkonzentrat wurde in den SAG-M Beutel geleitet.

Im Anschluss an die Separation wurden der Plasmabeutel und der SAG-M Beutel vom System entfernt, anschließend gewogen und die erzeugte Produktmenge berechnet. Mithilfe einer 10 ml Spritze³⁰ erfolgte die Entnahme von 8 ml aus dem Plasmabeutel für die

³⁰ BD Discardit™ II, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland

weiteren Untersuchungen (→ siehe "Probenverarbeitung aus dem Plasmabeutel"). Der Plasmabeutel wurde anschließend verschlossen, das Etikett aufgebracht und der Beutel gelagert.

Aus dem SAG-M Beutel wurden über eine Spritze 5 ml des EKs für die weiteren Untersuchungen entnommen (→ siehe "Probenverarbeitung des Erythrozytenkonzentrates"). Es folgte der Verschluss des SAG-M Beutels sowie seine Etikettierung und Lagerung.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Stabilisator - und Additivlösung des Beutelsystems

Inhaltsstoff	CPD	SAG-M
Adenin	-	16,9 mg
Glukose-Monohydrat	2,55 g	900 mg
Mannitol	-	525 mg
Natriumcitrat-Dihydrat	2,63 g	-
Natriumchlorid	-	877 mg
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat	0,222 g	-
Wasser für Injektionszwecke	ad 100 ml	ad 100 ml
Zitronensäure	0,299 g	-

Zentrifugation

Für die Methode der Zentrifugation wurden dieselben Beutel verwendet, die auch bei der Methode der Filtration Anwendung fanden.

Nach der Blutabnahme in den Vollblutbeutel wurde dieser an einen Infusionsständer aufgehängt und der Schlauch mit der Entnahmekanüle durchtrennt. Über das abgetrennte Schlauchende und unter Verwendung einer 20 ml Spritze³¹ erfolgte die Entnahme von ca. 15 ml Vollblut aus dem System (→ siehe "Probenverarbeitung aus dem Vollblutbeutel").

³¹ BD Discardit™ II, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland

Im Anschluss daran wurde nach dem Leukozytenfilter ein leerer Beutel angeschlossen. Es folgte die Aktivierung des Systems, sodass das Blut aus dem Vollblutbeutel durch den Filter in den darunter hängenden leeren Beutel fließen konnte. Mithilfe eines Schlauchstrippers³² wurde das restliche sich im Schlauch befindliche Blut in den Beutel überführt. Dieser wurde vom System abgetrennt und das Schlauchende mit einer Kombi-Verschlusskappe³³ verschlossen. Der Beutel wurde in ein Zentrifugengefäß überführt und die überstehenden Enden mithilfe von Klebestreifen³⁴ abgedeckt. Das Gewicht wurde bestimmt, sodass ein entsprechendes Gegengewicht für die Zentrifugation benutzt werden konnte. Der Beutel im Zentrifugengefäß sowie das entsprechende Gegengewicht wurden in die Zentrifuge³⁵ gegeben. Es erfolgte die Zentrifugation (20 Min, bei 3600 RPM, 3724 g, 20 °C). Nach der Zentrifugation wurde der Beutel vorsichtig entnommen und auf dem Plasmaseparator platziert. Die Kombi-Verschlusskappe am Schlauchende des Beutels wurde entfernt und ein 3-Wege Hahn³⁶ sowie ein Verbindungsstück³⁷ angeschlossen. Mithilfe einer 20 ml Spritze erfolgte zunächst die Entfernung des restlichen Blutes und der Luft aus dem Schlauch mithilfe eines 3-Wege Hahns. Im Anschluss daran wurde ein Plasmabeutel an das Verbindungsstück angeschlossen und der Plasmaseparator zur Abtrennung des Plasmas aktiviert. Es folgte die Überführung des abzentrifugierten Plasmas in den neuen Plasmabeutel. Nach der Überführung wurde das Verbindungsstück sowie der 3-Wege Hahn entfernt und beide Beutel mit einer Kombiverschlusskappe verschlossen. Im Anschluss daran erfolgte das Wiegen³⁸ des Plasmabeutels und die Berechnung der erzeugten Plasmamenge. Mithilfe einer 10 ml Spritze³⁹ wurden aus dem Plasmabeutel 8 ml für die weiteren Untersuchungen entnommen (→ siehe "Probenverarbeitung aus dem

³² Donor Tube Stripper, Fenwal A Aresenius Kabi Company, Lake Zurich, USA

³³ Kombi-Verschlusskappe, CliniPharma S.R.O., Prag, Tschechien

³⁴ 3M™ Durapore™, 3M Deutschland GmbH, Neuss, Deutschland

³⁵ ROTANTA 460 R, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland

³⁶ LIPID-RESISTENTER 3-WEGE HAHN, Wellmed International Industries Private Limited, Indien

³⁷ Verbindungsstück mit loser Überwurfmutter, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland

³⁸ ADE KE 1511, ADE GmbH & Co., Hamburg, Germany

³⁹ BD Discardit™ II, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland

Plasmabeutel“). Es folgten das Verschließen des Plasmabeutels, seine Etikettierung und Lagerung.

Der Beutel in dem sich das EK befand, wurde mit dem SAG-M Beutel verbunden und der SAG-M Beutel an den Infusionsständer aufgehängt. Dieser wurde über Bruchventile aktiviert, sodass das SAG-M in den Beutel mit dem EK fließen konnte. Während dessen wurde der Beutel mit dem EK leicht geschwenkt, um eine gute Durchmischung zu erzielen. Im Anschluss daran erfolgte die Aufhängung des Beutels mit dem EK an den Infusionsständer, sodass der Inhalt zurück in den SAG-M Beutel fließen konnte. Dieser Vorgang diente dazu, das EK in der SAG-M Lösung zu resuspendieren. Befand sich das EK zurück im SAG-M Beutel, wurde dieser gewogen und die genaue Menge des EKs berechnet. Im Anschluss daran erfolgte die Probenabnahme von 5 ml aus dem EK über eine am Schlauch befindliche Spritze (→ siehe “Probenverarbeitung des Erythrozytenkonzentrates“). Der SAG-M Beutel wurde im Anschluss verschlossen, etikettiert und gelagert.

Proben

Probenverarbeitung aus dem Vollblutbeutel

Die entnommenen 15 ml Vollblut wurden zu gleichen Teilen auf 10 Mikroröhrchen⁴⁰ verteilt. 1 Röhrchen diente für die Blutgasanalyse, BGA, 1 Röhrchen für die hämatologische Untersuchung am ADVIA® 2120, 1 Röhrchen für die Untersuchung des Totalprotein -, Albumin -, K⁺ -, P - und LDH - Gehaltes, 1 Röhrchen für die Elektrophorese und 6 Röhrchen dienten für die spätere Untersuchung der Gerinnung. Die sechs Röhrchen für die Gerinnung wurden mit einer Zentrifuge⁴¹ für 5 Min und 5800 RPM zentrifugiert. Nach der ersten Zentrifugation wurde das Plasma mit einer Pipette ab-pipettiert und in neue Mikroröhrchen gefüllt. Diese wurden ein weiteres Mal unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Im Anschluss daran wurde das Plasma wieder ab-pipettiert und in neue Mikroröhrchen

⁴⁰ Mikroröhre 2 ml mit Verschluss, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland

⁴¹ MIKRO 20, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland

überführt. Von diesen 6 Röhrchen ließ man drei Röhrchen stehen für die spätere Untersuchung des Abbaus empfindlicher Faktoren während der Lagerung bei Raumtemperatur für die Dauer der Gewinnung der Blutprodukte. Die anderen drei Röhrchen wurden zunächst bei – 20 °C für 24 h und später bei – 80 °C eingefroren.

Die Probe für die spätere Elektrophorese wurde zunächst zentrifugiert (1 Min, 10000 RPM). Das Plasma wurde abgenommen und in ein neues Probenröhrchen überführt. Für die Durchführung der Elektrophorese wurde das Plasma zur Firma BIOCONTROL⁴² geschickt.

Probenverarbeitung aus dem Plasmabeutel

Die entnommenen 8 ml Plasma wurden auf 6 Mikroröhrchen verteilt. Davon wurden 3 Mikroröhrchen für die spätere Untersuchung der Gerinnung benötigt, 1 Mikroröhrchen für die Messung ADVIA® 2120, 1 Röhrchen für die klinische Chemie und 1 Röhrchen für die Elektrophorese. Das Röhrchen für die Elektrophorese wurde wieder für eine Minute zentrifugiert (10000 RPM), das Plasma ab-pipettiert, in ein neues Probenröhrchen überführt und zur Firma BIOCONTROL geschickt. Die drei Mikroröhrchen welche für die spätere Untersuchung der Gerinnung benötigt wurden, wurden wieder zentrifugiert (5 Min, 5800 RPM). Nach der ersten Zentrifugation wurde das Plasma mit einer Pipette ab-pipettiert und in neue Mikroröhrchen gefüllt. Diese wurden ein weiteres Mal unter den gleichen Bedingungen zentrifugiert. Im Anschluss daran wurde das Plasma erneut ab-pipettiert und in neue Mikroröhrchen überführt. Diese Proben wurden zusammen mit den drei stehen gelassenen Proben (siehe oben) eingefroren.

⁴² BIOCONTROL, Ingelheim, Deutschland

Probenverarbeitung des Erythrozytenkonzentrates

Zu gleichen Teilen erfolgte die Aufteilung der 5 ml des EKs in 4 Mikroröhrchen. Ein Röhrchen diente für die hämatologische Untersuchung, ein weiteres für die BGA und die anderen beiden Röhrchen für die Untersuchung der Parameter der klinischen Chemie.

Die Gesamtdauer der Verarbeitung aller oben genannten Proben wurde dokumentiert.

Analysemethoden der Proben

Gerinnung (STA Compact^{®43})

Beim STA Compact[®] handelt es sich um ein vollautomatisches Laborgerät zur Untersuchung der Hämostase. Die zu untersuchenden Proben und die entsprechenden Testreagenzien wurden manuell in das Gerät eingebracht. Die weitere Verarbeitung der Proben, die Analyse und Darstellung der Ergebnisse erfolgte automatisch.

Das System ist aus unterschiedlichen Bestandteilen zusammengesetzt. Es beinhaltet eine Küvette in der sich eine Kugel befindet sowie mehrere Nadeln, welche die Proben und entsprechenden Reagenzien pipettieren. In der Küvette befinden sich nach dem Pipettiervorgang das benötigte Reagenz sowie die zu untersuchende Probe. Die Metallkugel in der Küvette wird in Schwingungen gebracht, um mithilfe eines chronometrischen Messsystems die Koagulationszeit ermitteln zu können. Beim chronometrischen Messprinzip wird die Veränderung der Schwingungsamplitude der Metallkugel erfasst. Die Messung erfolgt durch elektromagnetische Sensoren. Die Schwingungsamplitude zeigt eine Konstanz auf, wenn die Viskosität des umgebenden Mediums konstant ist. Ein Anstieg in der Viskosität resultiert in einer Abnahme der Schwingungsamplitude.

Neben dem chronometrischen Messsystem verfügt das Gerät auch über die Möglichkeit, kolorimetrische und immunologische Tests durchzuführen. Im Gerät befindet sich eine Lichtquelle. Das monochromatische Licht wird zur Küvette geleitet, in der eine Farbreaktion abläuft. Das aus der Küvette austretende Licht wird mithilfe eines Sensors gemessen und

⁴³ STA Compact[®], Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

die Absorption ermittelt. Das Lambert-Beersche Gesetz findet Anwendung, um mithilfe der Absorption die Konzentration der zu messenden Substanz zu ermitteln (Diagnostica Stago).

Faktor V, Faktor VIII, Fibrinogen, PT und aPTT sowie AT III

Vor der Analyse wurden die tiefgefrorenen Proben in einem Wasserbad⁴⁴ bei 37 °C aufgetaut und anschließend für 10 Minuten zentrifugiert (3000 RPM). Mithilfe des STA Compact® wurden die einzelnen Gerinnungsparameter untersucht. Hierzu zählten die PT, die aPTT, der Faktor V und VIII, das Fibrinogen sowie das AT III.

Zur Bestimmung der PT wurde das Test-Kit STA®-Néoplastine® CI Plus⁴⁵ verwendet. Für die Ermittlung der aPTT fand das STA® - C.K. Prest®⁴⁶ Test - Kit Anwendung. Die Aktivität des Faktors V wurde mithilfe von Humanplasma bestimmt, welches einen Mangel an Faktor V aufweist (STA® – Deficient V⁴⁷ Test-Kit). Für die Untersuchung der Faktor VIII Aktivität kam das Test-Kit STA® - Deficient VIII⁴⁸ zum Einsatz. Dieses beinhaltet alle Gerinnungsfaktoren im Überschuss mit Ausnahme des Faktors VIII. Die quantitative Bestimmung des Fibrinogens erfolgte nach der Methode nach Clauss⁴⁹. Mithilfe des STA® - Stachrom® AT III⁵⁰ Test - Kits erfolgte die quantitative Bestimmung des AT III (chromogene Substratmethode).

Um die Richtigkeit der Untersuchungen sicherzustellen, wurden des Weiteren interne Qualitätskontrollen durchgeführt.

⁴⁴ Wasserbad, GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland

⁴⁵ STA® - Néoplastine® CI Plus, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

⁴⁶ STA® - C.K. Prest®, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

⁴⁷ STA® – Deficient V, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

⁴⁸ STA® - Deficient VIII, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

⁴⁹ STA® - Fibrinogen, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

⁵⁰ STA® - Stachrom® AT III, Diagnostica Stago S.A.S., Asnières-sur-Seine, Frankreich

vWF-Antigen

Die Ermittlung des vWF-Antigens in der Probe erfolgte durch das Fremdlabor LABOKLIN⁵¹ mittels Immunturbidimetrie⁵². Die zu untersuchende Probe wurde in gefrorenem Zustand an das Fremdlabor übersandt.

Elektrophorese

Die Untersuchung des Albumins und der Globuline wurde durch das Fremdlabor der Firma BIOCONTROL⁵³ in Ingelheim durchgeführt.

Klinische Chemie (ABX Pentra 400)

Mithilfe des ABX Pentra 400⁵⁴ wurde der Probengehalt vom Totalprotein, Albumin, Kalium, Phosphor und der LDH analysiert. Zuvor wurde das Heparin-Röhrchen zentrifugiert.

Das Gerät ABX Pentra 400 führt die Analyse der Substanzen automatisch durch, nachdem die zu untersuchende Probe manuell in das Gerät eingebracht wurde. Das jeweilige benötigte Reagenz (siehe unten) wird in einer Reagenziennadel auf 37 °C vorgewärmt, bevor es in eine Küvette überführt wird. Die Homogenisierung des Reagenzes und der Probe in der Küvette erfolgt automatisch. Die Ermittlung der oben genannten Parameter (ausgenommen des Kaliumgehaltes) erfolgt durch ein photometrisches Messprinzip.

Im Gerät befindet sich ein Spektrophotometer. Von einer Halogen-Wolfram-Lampe aus wird weißes Licht abgestrahlt, welches über mehrere Ausrichtungslinsen auf die Messküvette geleitet wird. Nach der Interaktion mit dem Reaktionsgemisch wird das austretende Licht über eine weitere Linse in den Spektrographen geleitet. Dort trifft es auf

⁵¹ LABOKLIN GmbH & Co. KG, Labor für klinische Diagnostik, Bad Kissingen, Deutschland

⁵² Cobas 8000 c701, Roche Diagnostics GmbH

⁵³ BIOCONTROL, Ingelheim, Deutschland

⁵⁴ ABX Pentra 400, HORIBA ABX SAS, Montpellier, Frankreich

ein Reflexionsgitter, welches das weiße Licht in monochromatische Strahlen zerlegt und diese anschließend zum Detektor reflektiert (HORIBA ABX SAS).

Laktatdehydrogenase (LDH)

Für die Ermittlung des LDH Gehaltes wurden kommerzielle Reagenzien⁵⁵ verwendet. Die Laktatdehydrogenase katalysiert die Umwandlung von L - Laktat und NAD^+ zu Pyruvat, NADH und H^+ . Bei diesem Reaktionsablauf ist die Geschwindigkeit mit der das NADH gebildet wird proportional zur Aktivität der LDH. Es liegt das oben beschriebene photometrische Messprinzip zu Grunde (Axonlab).

Totalprotein (TTP)

Der Gehalt an Totalprotein wird mithilfe eines kolorimetrischen Testes (Biuret- Reaktion) unter Zuhilfenahme von kommerziellen Reagenzien⁵⁶ ermittelt. In einem alkalischen Medium reagiert zweiwertiges Kupfer zusammen mit den Peptidbindungen der Eiweiße. Es bildet sich ein charakteristischer purpurfarbener Biuretkomplex. Die Farbintensität ist hierbei proportional zur Konzentration des Eiweißes. Die Messung erfolgt photometrisch. Im Anschluss daran erfolgt die Berechnung des Gesamteiweißes (Labor+Technik Eberhard Lehmann).

Albumin

Die Bestimmung des Albumin Gehaltes erfolgt durch die kolorimetrische Bestimmung unter Verwendung von Bromkresolgrün. Das Bromkresolgrün bindet bei einem pH – Wert von 4,2 das Albumin und verursacht eine Blaufärbung (ABX Diagnostics). Um den Albumin Gehalt ermitteln zu können wurden kommerzielle Reagenzien⁵⁷ verwendet.

⁵⁵ AXON LAB LDH IFCC, Axon Lab AG, Reichenbach/Stuttgart, Deutschland

⁵⁶LT-SYS® Gesamt-Eiweiß Biuret, Labor+Technik Eberhard Lehmann, Berlin, Deutschland

⁵⁷ ABX Pentra Albumin CP, ABX Diagnostics, Montpellier, Frankreich

Phosphor (P)

Die Bestimmung des anorganischen Phosphorgehaltes erfolgte nach der UV-Methode mit Phosphomolybdat.

Bei der ablaufenden Reaktion interagiert das Phosphor zusammen mit Schwefelsäure und Ammoniummolybdat und es bildet sich der Phosphomolybdat-Komplex. Die quantitative Phosphor Bestimmung erfolgt kolorimetrisch (ABX Diagnostics). Für die Bestimmung wurde das Reagenz ABX Pentra Phosphorus CP⁵⁸ verwendet.

Kalium

Die Bestimmung der Kaliumkonzentration erfolgt über das ISE-Modul des Gerätes ABX Pentra 400. Zur Ermittlung der Ionenkonzentration verwendet dieses Modul ionenselektive Elektroden (ISE) sowie eine Referenzelektrode. Die Probe von welcher der K⁺- Gehalt bestimmt werden soll wird unverdünnt in das Gerät gegeben. Die Probennadel pipettiert automatisch 60 µl der Probe in den Probencup, von dem aus die Probe durch einen Luftsensor in den ISE-Elektrodenblock fließt. Eine Referenzlösung wird durch die Referenzelektrode geleitet und wird anschließend ebenfalls in den ISE-Elektrodenblock überführt. Zwischen der ionenselektiven Elektrode und der Referenzelektrode wird das elektrische Potential gemessen, welches eine Funktion der Ionenkonzentration darstellt (HORIBA ABX SAS).

⁵⁸ ABX Pentra Phosphorus CP, ABX Diagnostics, Montpellier, Frankreich

Hämatologische Untersuchung (ADVIA® 2120⁵⁹)

Die hämatologische Untersuchung der Probe erfolgte durch das Hämatologie – System ADVIA® 2120⁵⁷. Die zu untersuchende Probe wird in das Gerät eingebracht und automatisch eingesaugt. Mithilfe eines Scherventils wird die Probe für verschiedene Tests aufgeteilt. Im System befinden sich fünf Reaktionskammern in denen die Mischung der Probe mit dem jeweiligen Reagenz erfolgt. In den Kammern finden zytochemische Reaktionen statt. Nach dem Ablauf der zytochemischen Reaktion wird das Gemisch aus dem Reagenz und der Probe in die Flusszellen geleitet, wo die weitere Analyse stattfindet (Siemens Healthcare GmbH 2008). Die Messung der Thrombozyten und Erythrozyten erfolgt mithilfe einer „Doppelwinkel-LASER-Streulicht-Messung“ (Moritz 2000). Die einzelnen Leukozyten werden im LASER-Streulicht und in einem zweiten Kanal anhand der Lichtabsorption eines Halogenlichtes und ihrer Lichtstreuung ermittelt. Die photometrische Bestimmung des Hämoglobingehaltes erfolgt innerhalb der Hämoglobinkammer, nach Lyse der Erythrozyten (Siemens Healthcare GmbH 2008).

Blutgasanalyse (Cobas b 221 System⁶⁰)

Die Blutgasanalyse des venösen Blutes erfolgte mithilfe des vollautomatischen Cobas b 221 Systems. Über dieses System wurden der pH – Wert, der pO₂, pCO₂ sowie der Glukose - und Laktatgehalt ermittelt.

⁵⁹ ADVIA® 2120, Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Deutschland

⁶⁰ Cobas b 221 System, Roche Diagnostics

Statistik

Die einzelnen Messwerte wurden elektronisch gesammelt und anschließend manuell in eine Excel⁶¹ Tabelle eingefügt. Für die statistische Auswertung wurde das Programm GraphPad Prism⁶² herangezogen. Zunächst erfolgte eine 2-faktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholung hinsichtlich des Faktors Entnahmeort. Als Post-hoc-Tests wurden für die Untersuchung des Effektes der Systeme (Hohlfasersystem und Zentrifuge) der *Sidak's multiple comparison test* durchgeführt. Ein möglicher Effekt des Entnahmeortes innerhalb der Gruppe (Hohlfasersystem oder Zentrifuge) wurde durch den *Tukey's multiple comparison test* untersucht. Für die Bewertung einer statistischen Signifikanz wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ festgelegt. Daraus ergab sich, dass Ergebnisse mit $p < 0,05$ als statistisch signifikant erachtet wurden. Der genaue p-Wert wurde angegeben. Falls Referenzwerte zur Verfügung standen, wurde der Referenzbereich grau hinterlegt.

In einem weiteren Schritt erfolgte die nähere Beleuchtung des Effektes der Plasmagewinnung mit den zwei unterschiedlichen Separationsarten. Die prozentuale Differenz der Messwerte nach und vor der Plasmagewinnung wurde verglichen. Zunächst erfolgte die Berechnung der prozentualen Differenz ($\% \text{ Differenz} = \frac{\text{Wert im Vollblutbeutel} - \text{Wert im Plasmabeutel}}{\text{Wert im Vollblutbeutel}} \times 100$). Zur Überprüfung der Normalverteilung wurde der *Shapiro-Wilk -Test* herangezogen. Lag eine Normalverteilung vor, wurde ein ungepaarter t-Test herangezogen. Im Falle einer nicht-Normalverteilung fand der *Mann - Whitney - U - Test* Anwendung. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgesetzt.

In einem dritten Schritt erfolgte die nähere Betrachtung des Effektes der Gewinnung des Erythrozytenkonzentrates mit den zwei unterschiedlichen Separationsarten. Die prozentuale Differenz der Messwerte nach und vor der Gewinnung des Erythrozytenkonzentrates wurde verglichen. Zunächst erfolgte die Berechnung der prozentualen Differenz ($\% \text{ Differenz} = \frac{\text{Wert im Vollblutbeutel} - \text{Wert im EK-Beutel}}{\text{Wert im Vollblutbeutel}} \times 100$).

⁶¹ Microsoft Excel 2016, Microsoft Corporation, USA

⁶² GraphPad Prism, Graph Pad Software, San Diego, USA

im Vollblutbeutel x 100). Zur Überprüfung der Normalverteilung wurde der *Shapiro-Wilk - Test* herangezogen. Lag eine Normalverteilung vor, wurde ein ungepaarter t-Test herangezogen. Im Falle einer nicht-Normalverteilung fand der *Mann - Whitney - U - Test* Anwendung. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ festgesetzt.

Box-and-Whisker-Plots wurden für die graphische Darstellung der Datenverteilung verwendet. Diese graphische Darstellung erlaubt eine schnelle Übersicht über den Median, das untere und obere Quartil sowie über die Extremwerte. Innerhalb einer Box befindet sich ein Querbalken, welcher den Median der Verteilung repräsentiert. Anhand der Darstellung des Medians lässt sich erkennen, ob eine asymmetrische oder symmetrische Verteilung vorliegt. Dem Median liegen das 25 %-Quartil beziehungsweise das 75 %-Quartil an. Die Linien außerhalb der Box werden als Whisker bezeichnet, an deren Enden der Minimalwert beziehungsweise Maximalwert dargestellt ist. Die Querbalken mit Sternen oberhalb der Box-and-Whisker-Plots demonstrieren einen Unterschied zwischen den Systemen am jeweiligen Entnahmeort. Die Anzahl der verwendeten Sterne spiegelt das Ausmaß der Signifikanz wieder (* = signifikant ($p \leq 0,05$); ** = sehr signifikant ($p \leq 0,01$); *** = hochsignifikant ($p \leq 0,001$); **** = höchst signifikant ($p \leq 0,0001$)).

Eine detaillierte tabellarische Darstellung des Medians, der Minimal- und Maximalwerte der untersuchten Parameter befindet sich im Anhang.

Ergebnisse der Untersuchung

Studienteilnehmer

Es nahmen insgesamt 32 Hunde an der Studie teil. Der Studienzeitraum war von Februar bis Juni 2017. Die 31 Studienteilnehmer die in die statistische Auswertung eingingen waren Hunde von einem Alter von 1 Jahr bis 6 Jahren, wobei der Median bei 4 Jahren lag. Ein Ausschluss aus der statistischen Auswertung erfolgte beim Vorliegen einer hochgradigen Hyperlipidämie. Ein Spender wurde aufgrund dessen aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen (Gruppe Hohlfasersystem). Sein Plasma war hochgradig lipämisch (Triglyceride = 4,24 mmol/l) und die generierte Plasmamenge 96 g betrug. Das Volumen des Erythrozytenkonzentrates lag bei 314 g. Im Vergleich zum Volumen des Vollblutbeutels (508 g) ergab sich eine Differenz von 98 g.

Die Gewichtsverteilung der Probanden lag zwischen 20,1 kg und 67 kg mit einem Medianwert von 37 kg. Die Rasseverteilungen der Studienteilnehmer auf die zwei Separationsmethoden Hohlfasersystem (n=16) und Zentrifuge (n=15) sind unter Angabe des jeweiligen Geschlechtes (♂, ♀) und ggf. Kastration (K) aus Tabelle 2 zu entnehmen.

Ergebnisse der Untersuchung

Tabelle 2: Rasseverteilung der Studienteilnehmer

Rasse	3M™ Blood Separation System (n = 16)	Zentrifuge (n=15)
Altdeutscher Hütehund	-	1 (♂)
Bearded Collie	1 (♀ K)	-
Berner Sennenhund	1 (♂)	-
Bordeaux Dogge	1 (♂)	1 (♂ K)
Collie Langhaar	-	1 (♂)
Deutscher Schäferhund	2 (♀) 2 (♂)	2 (♀) 1 (♂)
Golden Retriever	-	1 (♂ K)
Hovawart	1 (♂ K)	-
Magyar Vizsla	1 (♂)	-
Mischling	1 (♀) 2 (♂ K) 2 (♂)	1 (♀) 1 (♀ K) 1 (♂) 4 (♂ K)
Rhodesian Ridgeback	1 (♂) 1 (♂ K)	-
Riesenschnauzer	-	1 (♀)

Parameter der Gerinnung

PT

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,15$) auf die PT ausübten. Es zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$), als auch eine Signifikanz ($p<0,0001$) für die Wechselwirkung zwischen dem Entnahmeort und dem System.

Für den Entnahmeort "Plasmabeutel" ließ sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* eine signifikant längere PT ($p<0,0001$) im mittels Hohlfasersystem gewonnenen Plasma feststellen, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 6).

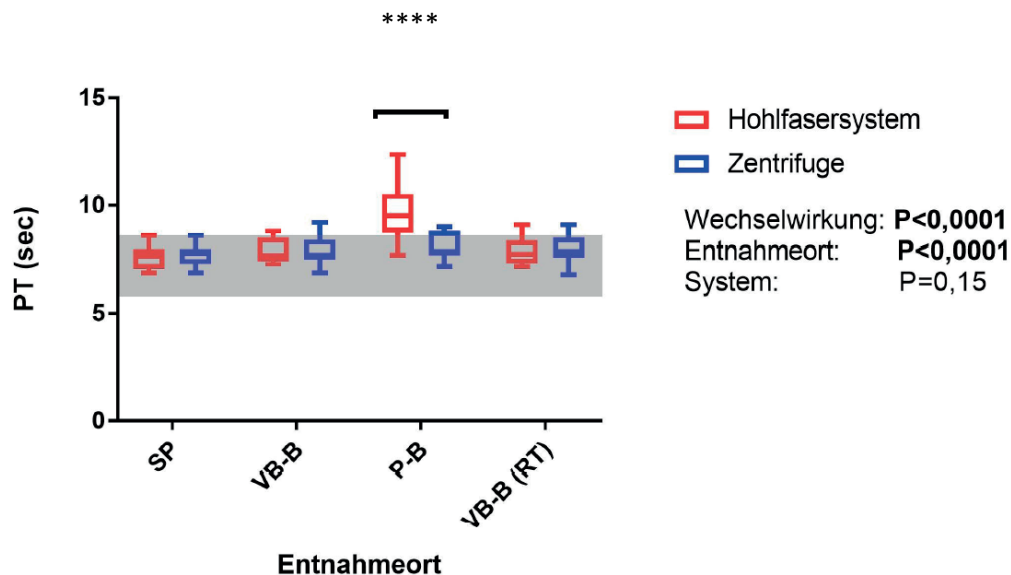


Abbildung 6: Vergleich der Systeme in Bezug auf die PT an den unterschiedlichen Entnahmeorten

PT = Prothrombinzeit; Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel,

P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT).

Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Ergebnisse der Untersuchung

Im Plasmabeutel lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei 9,4 sec (range 7,7 - 12,4 sec) und oberhalb des Referenzbereichs von 6,52 - 8,16 sec. Der Median der Gruppe Zentrifuge lag im Plasmabeutel bei 7,9 sec (range 7,2 - 9,0 sec). Für den Vollblutbeutel ergab sich ein Median der PT von 7,7 sec (range 7,3 - 8,8 sec) für die Gruppe Hohlfasersystem und für die Gruppe Zentrifuge ebenfalls ein Wert von 7,7 sec (range 6,9 - 9,2 sec). Die Werte der PT des Citratplasmas aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT) waren mit den Werten des Spenders und des Vollblutbeutels vergleichbar.

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der PT vom Plasma - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zwischen den Systemen (Abbildung 7), welcher mittels *Mann-Whitney-U-Test* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Verlängerung der PT von 21,5 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (3,6 %) feststellen.

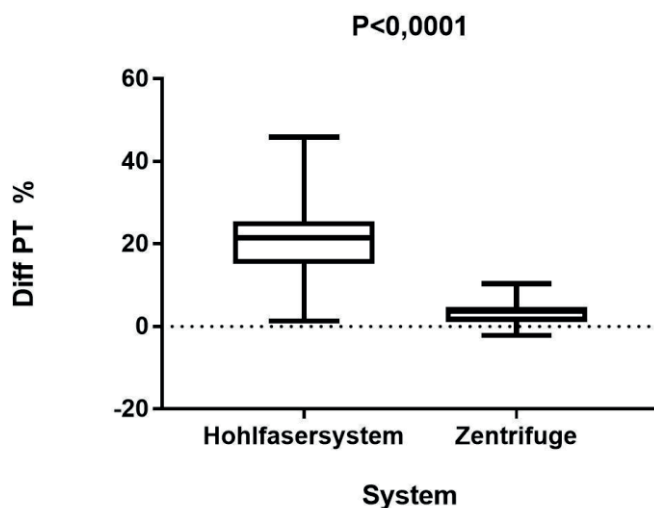


Abbildung 7: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der PT zwischen den Systemen

Diff = Differenz, PT = Prothrombinzeit

aPTT

Auch im Hinblick auf die aPTT zeigte sich bei der Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse kein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,43$) auf die aPTT. Im Unterschied hierzu ergaben sich für den Entnahmeort ($p<0,0001$), als auch für die Wechselwirkung ($p=0,002$) zwischen dem Entnahmeort und dem System signifikante Effekte.

Unter Anwendung des *Sidak's multiple comparison tests* ließ sich für den Entnahmeort "Plasmabeutel" eine signifikant längere aPTT im Plasma feststellen, welches mittels Hohlfasersystem gewonnen wurde, im Unterschied zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 8).

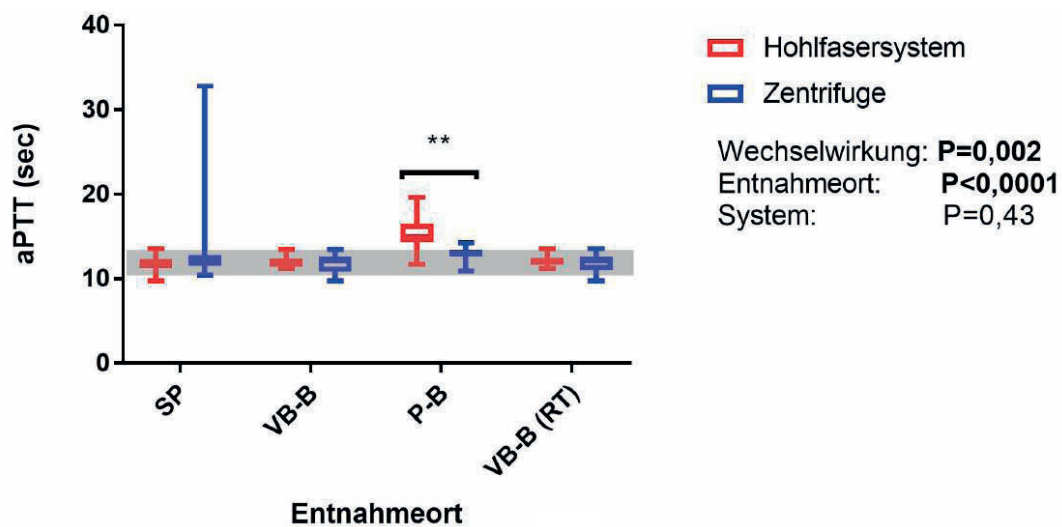


Abbildung 8: Vergleich der Systeme in Bezug auf die aPTT an den unterschiedlichen Entnahmeorten

aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT). Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Bei der Gruppe des Hohlfasersystems waren die Werte der aPTT an den Entnahmeorten Spender, Vollblutbeutel und aus dem Citratplasma des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) vergleichbar. Im Plasmabeutel ließ sich eine Erhöhung der aPTT feststellen. Der Median lag bei 14,9 sec (range 11,7 - 19,6 sec) und befand sich oberhalb des Referenzbereichs von 10,0 - 14,3 sec. Im Vergleich hierzu befand sich der Median des Vollblutbeutels bei 11,8 sec

(range 11,2 - 13,4 sec). Der Median der aPTT des Spenders lag bei der Gruppe Zentrifuge bei 11,9 sec (range 10,4 - 32,8 sec) und beim Plasmabeutel bei 13,1 sec (range 10,9 - 14,2 sec).

Bei der Betrachtung der prozentualen Differenz der aPTT vom Plasma – und Vollblutbeutel konnte ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zwischen den Systemen detektiert werden. Für die Gruppe Hohlfasersystem konnte eine Verlängerung der aPTT von 25,6 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (8,2 %) nachgewiesen werden (Abbildung 9).

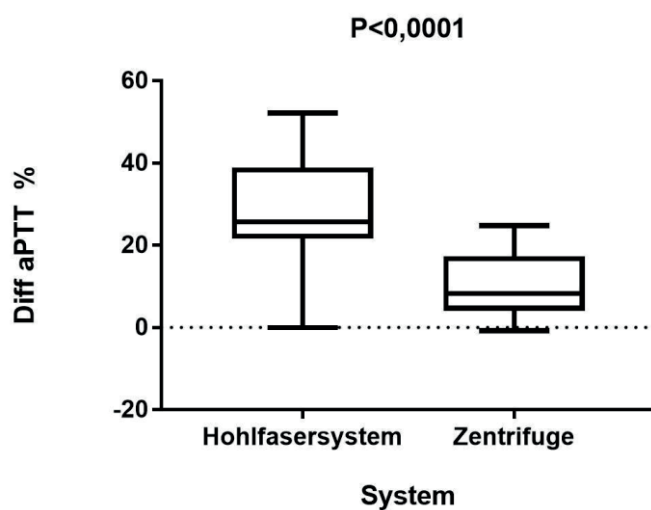


Abbildung 9: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der aPTT zwischen den Systemen

Diff = Differenz, aPTT = aktivierte partielle Thromboplastinzeit

Fibrinogen

Auch für die Fibrinogen Konzentration zeigte sich nach Anwendung der 2-faktoriellen Varianzanalyse, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p = 0,83$) auf das Fibrinogen ausübten. Im Unterschied hierzu ergab sich eine Signifikanz ($p < 0,0001$) für die Wechselwirkung zwischen dem Entnahmeort und System. Des Weiteren ließ sich ein signifikanter Effekt ($p < 0,0001$) des Entnahmeortes alleine auf die Fibrinogen Konzentration feststellen. Mittels *Sidak's multiple comparison tests* konnte ein signifikanter Unterschied

Ergebnisse der Untersuchung

zwischen den Systemen für den Entnahmeort Plasmabeutel festgestellt werden. Das mittels Hohlfasersystem gewonnene Plasma zeigte eine Reduktion des Fibrinogens auf, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Ebenso ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen für den Entnahmeort des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) (Abbildung 10).

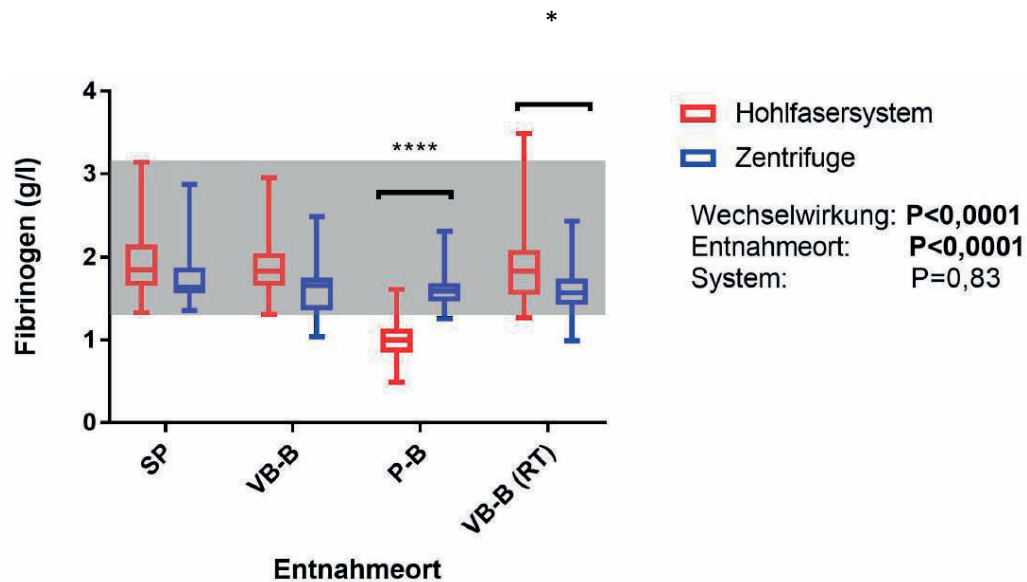


Abbildung 10: Vergleich der Systeme in Bezug auf die Fibrinogen Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel,

VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT). Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Bei der Gruppe Hohlfasersystem waren die Mediane für das Fibrinogen vom Spender, dem Vollblutbeutel sowie aus dem Citratplasma des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) vergleichbar. Für den Plasmabeutel zeigte sich ein Abfall in der Fibrinogen Konzentration. Hier lag der Median bei 1 g/l (range 0,49 - 1,61 g/l) und befand sich unterhalb des Referenzbereichs von 1,3-3,1 g/l. Im Vergleich hierzu lag der Median des Fibrinogens aus dem Vollblutbeutel bei 1,8 g/l (range 1,31 - 2,95 g/l). Bei der Gruppe Zentrifuge zeigte sich für das Fibrinogen im Plasmabeutel ein Median von 1,59 g/l, welcher mit den Medianen des Spenders, des Vollblutbeutels sowie mit dem Median aus dem Citratplasma des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) vergleichbar waren.

Ergebnisse der Untersuchung

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der Fibrinogen Konzentration vom Plasma - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0001$) zwischen den Systemen, welcher mittels *Mann-Whitney-U-Test* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Reduktion des Fibrinogens von 48,3 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (2,4 %) nachweisen (Abbildung 11).

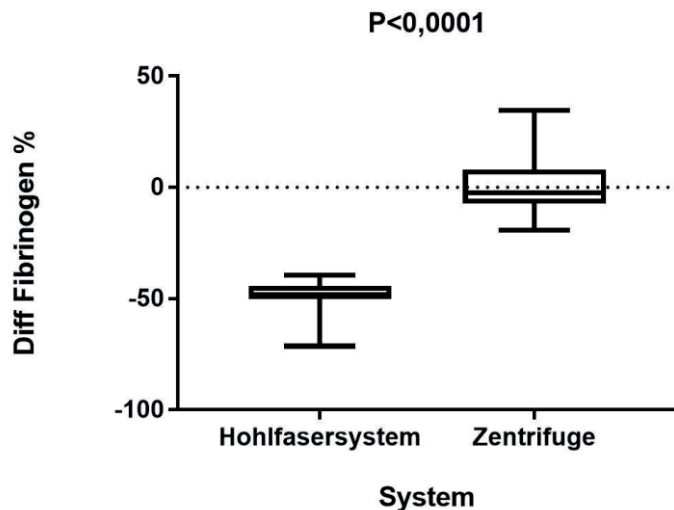


Abbildung 11: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Fibrinogens zwischen den Systemen

Diff = Differenz

FV

Im Rahmen der Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ließ sich ein signifikanter Einfluss ($p = 0,04$) des Systems auf den FV detektieren. Für die FV Konzentration konnte eine signifikante Veränderung ($p < 0,0001$) im Plasmabeutel im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten nachgewiesen werden. Des Weiteren ließ sich eine signifikante Interaktion ($p = 0,0002$) für die Haupteffekte (Entnahmeort und System) detektieren. Unter Verwendung des Hohlfasersystems zeigte sich im Plasmabeutel eine Verringerung der FV Konzentration im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge, sodass mittels *Sidak's multiple comparison tests* hierfür

ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ausfindig gemacht werden konnte (Abbildung 12).

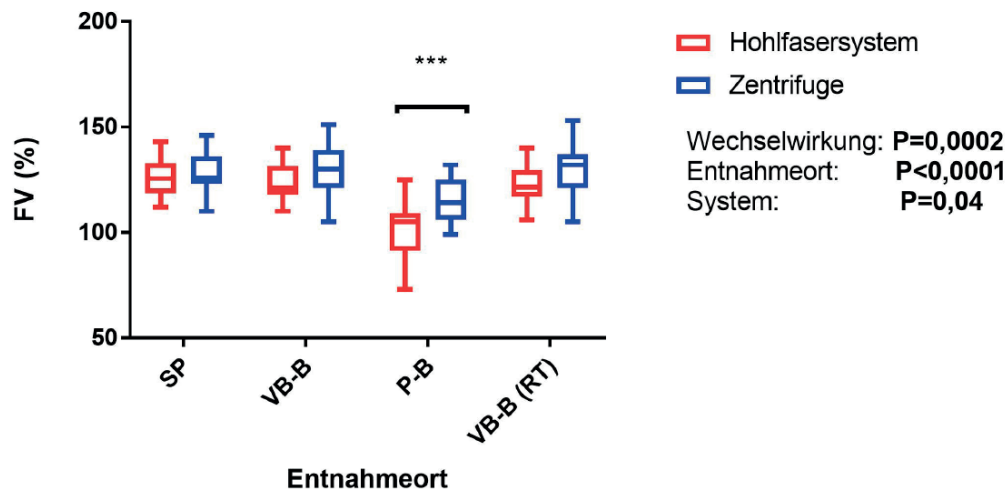


Abbildung 12: Vergleich der Systeme in Bezug auf den FV an den unterschiedlichen Entnahmeorten

FV = Faktor V, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT)

Im Vergleich zu den Ausgangswerten des Spenders und dem Vollblutbeutel zeigte sich eine Abnahme der FV Konzentration im Plasmabeutel. Im Vollblutbeutel lag der Median bei der Gruppe Hohlfasersystem bei 121 % (range 110 – 140 %) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 130 % (range 105 - 151 %). Der Median der Gruppe Hohlfasersystem im Plasmabeutel lag bei 105 % (range 73 - 125 %) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 114 % (range 99 - 132 %). Der Median des Citratplasmas aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei Raumtemperatur (RT)) war mit dem Median aus dem Vollblutbeutel vergleichbar.

Bei der Gegenüberstellung der prozentualen Differenz des FV vom Plasma - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p < 0,0019$) zwischen den Systemen, welcher mittels *Mann-Whitney-U-Tests* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem

ließ sich eine Abnahme der FV Konzentration von 18,7 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (7,9 %) nachweisen (Abbildung 13).

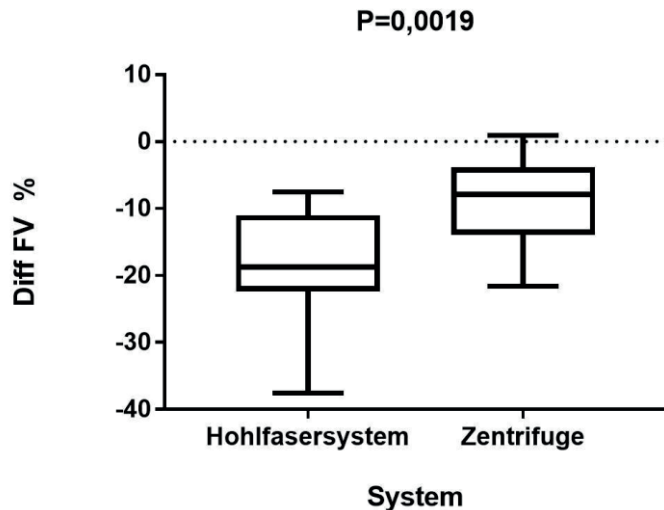


Abbildung 13: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der FV Konzentration zwischen den Systemen

Diff = Differenz, FV = Faktor V

FVIII

Im Hinblick auf die FVIII Konzentration ergab sich nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse weder ein signifikanter Einfluss des verwendeten Systems ($p=0,80$), noch eine Signifikanz im Hinblick auf die Wechselwirkung ($p=0,19$) der Haupteffekte (Entnahmeort und System). Es ließ sich jedoch eine signifikante Veränderung ($p<0,0001$) im Plasmabeutel im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten feststellen (Abbildung 14).

Für den Entnahmeort "Plasmabeutel" ließ sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* in Bezug auf die FVIII Konzentration kein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen nachweisen (Abbildung 15).

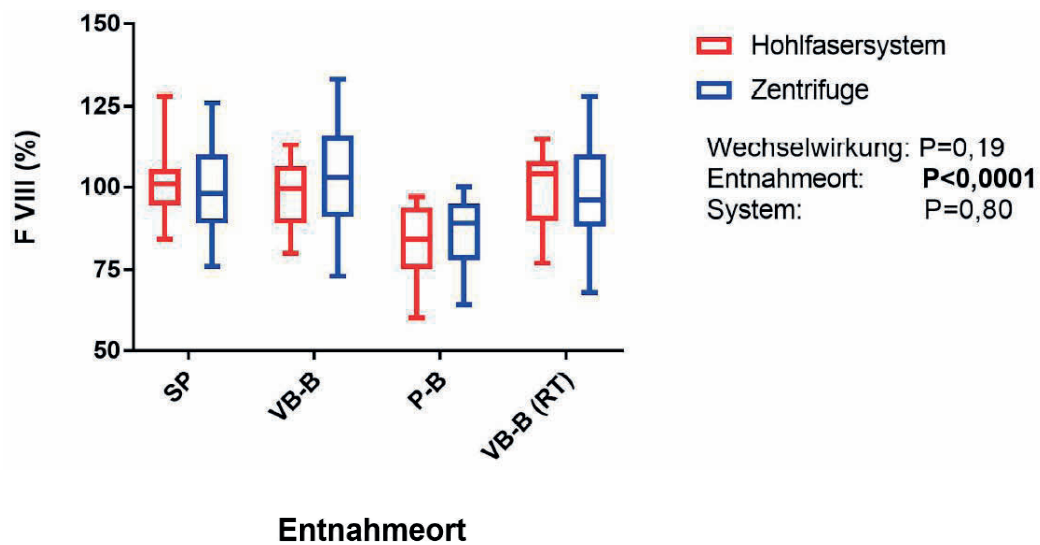


Abbildung 14: Vergleich der Systeme in Bezug auf die F VIII Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten

F VIII = Faktor VIII, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT)

Die Mediane der Ausgangswerte des Spenders, des Vollblutbeutels sowie von dem Citratplasma des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) waren nahezu vergleichbar. Im Plasmabeutel konnte eine Abnahme in der Konzentration an FVIII nachgewiesen werden. Für den Vollblutbeutel ergab sich für die Gruppe Hohlfasersystem ein Median von 99,5 % (range 80 - 113 %) und für die Gruppe Zentrifuge ein Median von 103 % (range 73 - 133 %). Bei der Probe aus dem Plasmabeutel lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei 86 % (range 60 - 97 %) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 89 % (range 64 - 100 %).

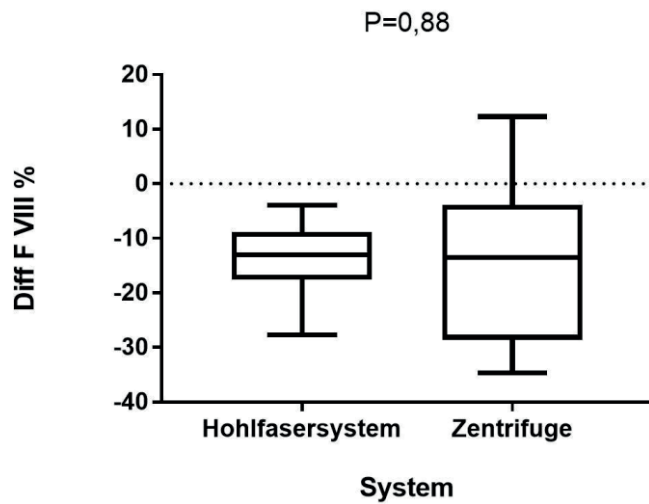


Abbildung 15: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der F VIII Konzentration zwischen den Systemen

Diff = Differenz, F VIII = Faktor VIII

vWF-Antigen

Im Hinblick auf das vWF-Antigen zeigte sich nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse weder ein signifikanter Einfluss des verwendeten Systems ($p=0,07$), noch eine Signifikanz für die Wechselwirkung der Haupteffekte ($p=0,30$). Für den Gehalt an vWF-Antigen ließ sich eine signifikante Veränderung ($p=0,0005$) in Abhängigkeit vom Entnahmeort feststellen (Abbildung 16).

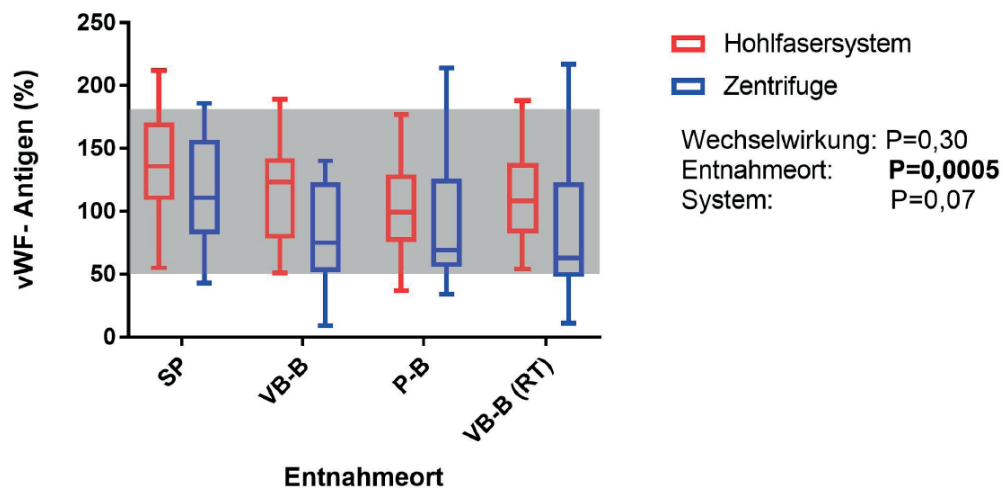


Abbildung 16: Vergleich der Systeme in Bezug auf das vWF-Antigen an den unterschiedlichen Entnahmeorten

vWF = von-Willebrand-Faktor, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT). Das Referenzintervall ist grau hinterlegt.

Die höchsten Gehalte an vWF-Antigen konnten im Spender nachgewiesen werden. Hier lag der Median bei der Gruppe Hohlfasersystem bei 136 % (range 55 - 212 %) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 111 % (range 43 - 186 %). Bis zum Plasmabeutel sank die Konzentration an vWF-Antigen immer weiter ab. Bei der Gruppe Hohlfasersystem lag der Median hier bei 101 % (range 37 - 177 %) und für die Gruppe Zentrifuge bei 69 % (range 34 - 214 %).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des vWF-Antigens vom Plasma - und Vollblutbeutel zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Systemen. Bei der Gruppe Zentrifuge konnte ein Ausreißer nachgewiesen werden (Abbildung 17).

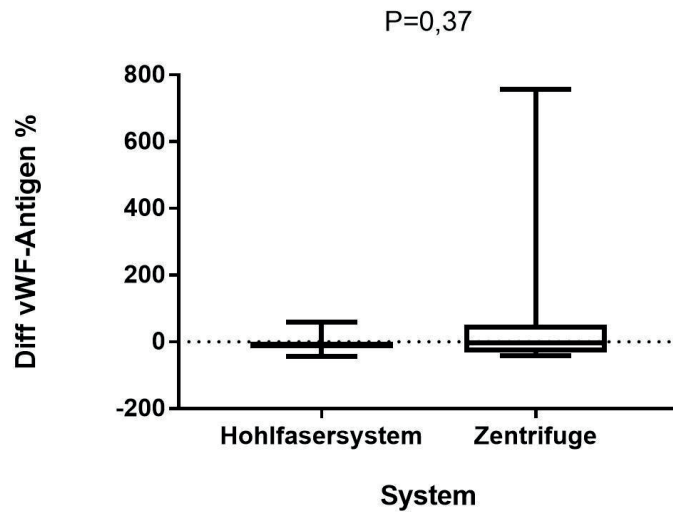


Abbildung 17. Darstellung des prozentualen Unterschiedes des vWF-Antigens zwischen den Systemen

Diff = Differenz, vWF-Antigen = von-Willebrand-Faktor Antigen

AT III

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,09$) auf das AT III ausübten. Es ließen sich jedoch signifikante Unterschiede im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$), als auch eine Signifikanz ($p<0,0001$) für die Wechselwirkung zwischen Entnahmeort und System feststellen. Für den Entnahmeort "Plasmabeutel" ließ sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* eine signifikante AT III Abnahme ($p<0,001$) im mittels Hohlfasersystem gewonnenen Plasmas feststellen, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 18).

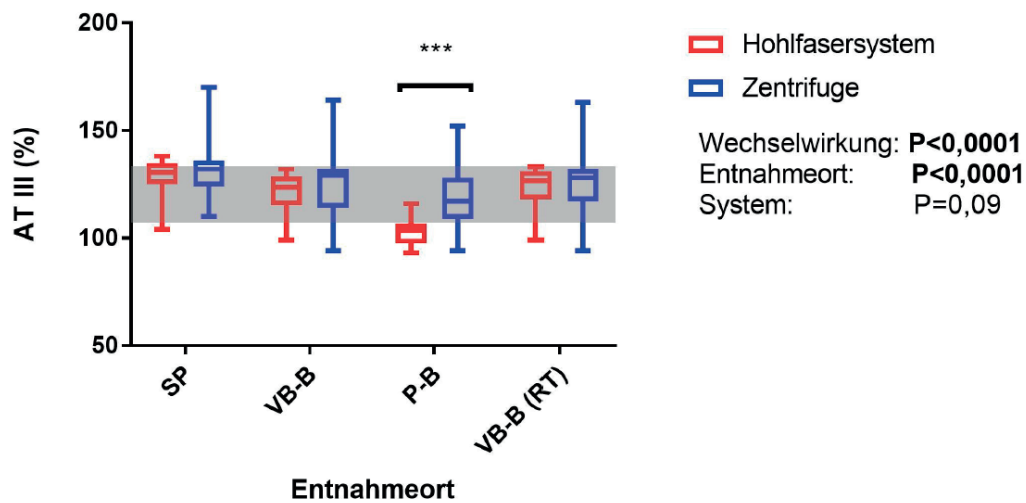


Abbildung 18: Vergleich der Systeme in Bezug auf die AT III Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten

AT III = Antithrombin III, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, VB-B (RT) = Citratplasma aus dem Vollblutbeutel (Lagerung bei RT). Das Referenzintervall ist grau hinterlegt.

Bei der Gruppe Hohlfasersystem konnte eine Abnahme in der AT III Konzentration im Plasmabeutel im Vergleich zu dem Vollblutbeutel und des Citratplasmas des Vollblutbeutels (Lagerung bei RT) nachgewiesen werden. Der Median des AT III lag im Plasmabeutel bei 104 % (range 93 - 116 %) und unterhalb des Referenzbereichs von 107,9 - 128,0 %. Im Vergleich zum Vollblutbeutel ergab sich hier ein Median von 123,5 % (range 99 - 132 %). Bei der Gruppe Zentrifuge lag der Median für AT III im Plasmabeutel bei 117 % (range 94 - 152 %), welcher im Vergleich zum Vollblutbeutel mit einem AT III Median von 129 % (range 94 - 164 %) geringer war.

Im Hinblick auf den Vergleich der prozentualen Differenz des AT III vom Plasma - und Vollblutbeutel ergab sich mittels *Mann-Whitney-U-Tests* ein signifikanter Unterschied ($p = 0,0004$) zwischen den Systemen. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Verringerung der AT III Konzentration von 15,2 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (2,6 %) nachweisen (Abbildung 19).

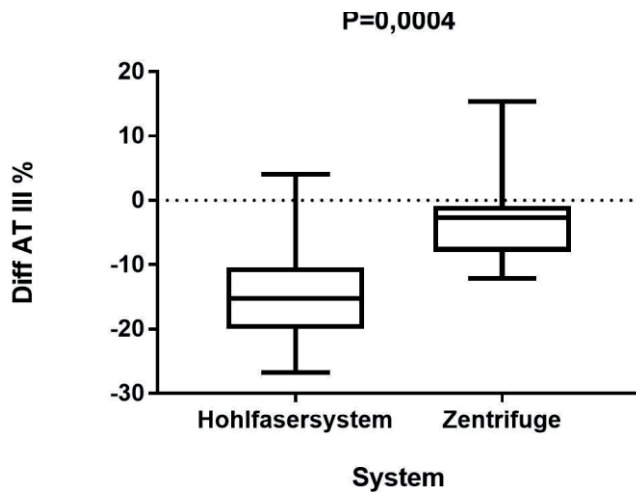


Abbildung 19: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des AT III zwischen den Systemen

Diff = Differenz, AT III = Antithrombin III

Proteine

TTP

Nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse zeigte sich, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,31$) auf das TTP ausübten. Im Unterschied hierzu konnten für den TTP Gehalt signifikante Unterschiede ($p<0,0001$) in Abhängigkeit vom Spender, Vollblut-, Plasma- und EK-Beutel nachgewiesen werden (Abbildung 20). Eine signifikante Interaktion zwischen den Haupteffekten ($p<0,0001$) Entnahmeort und System wurde detektiert.

Für den Gehalt an TTP im Plasmabeutel konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen mittels *Sidak's multiple comparison tests* nachgewiesen werden. Die Gruppe Hohlfasersystem wies geringere Gehalte an TTP im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge auf. Für den EK-Beutel zeigte die Gruppe Hohlfasersystem höhere Gehalte an TTP im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Es konnte hierfür ebenfalls ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ausfindig gemacht werden (Abbildung 20).

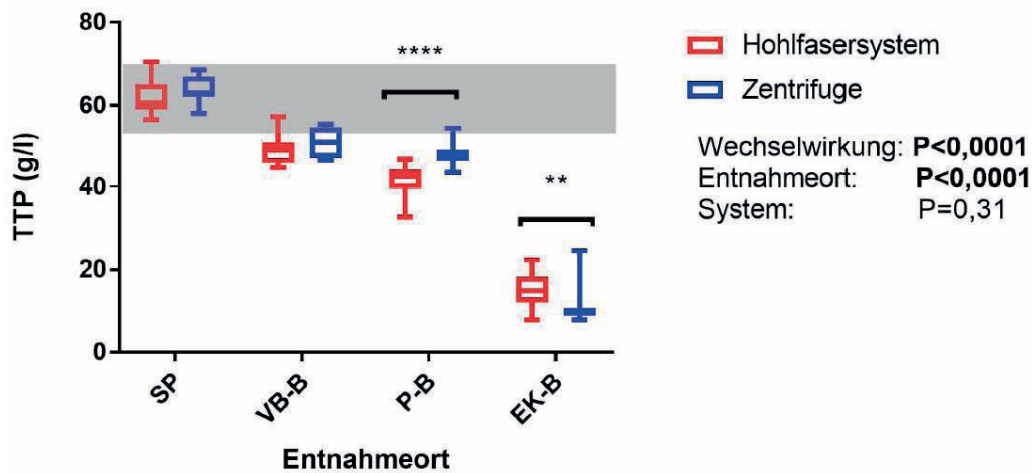


Abbildung 20: Vergleich der Systeme in Bezug auf den TTP Gehalt an den unterschiedlichen Entnahmeorten

TTP = Totalprotein, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Vergleich zum Ausgangswert im Spender sank der TTP Gehalt im Vollblutbeutel und im Plasmabeutel weiter ab. Im Plasmabeutel betrug der Median des TTP bei der Verwendung des Hohlfasersystems 42,4 g/l (range 32,6 - 46,6 g/l) und bei der Methode der Zentrifuge 48 g/l (range 43,5 - 54,4 g/l). Im EK-Beutel ließen sich die niedrigsten TTP Gehalte nachweisen. Hier lag der Median der Gruppe Hohlfasersystems bei 15,5 g/l (range 9,7 - 22,2 g/l) und bei der Methode der Zentrifuge bei 9,5 (range 7,8 - 24,4 g/l).

Bei der Betrachtung der prozentualen Differenz des TTP vom Plasma - und Vollblutbeutel ließ sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ($p=0,001$) feststellen, welcher mithilfe des *Mann-Whitney-U-Tests* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Verringerung der TTP Konzentration von 13,4 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (4,6 %) nachweisen (Abbildung 21).

Ebenso ließ sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,0002$) zwischen den Systemen im Hinblick auf die prozentuale Differenz des TTP vom EK - und Vollblutbeutel feststellen. Für

die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Verringerung der TTP Konzentration von 69,9 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (81,3 %) nachweisen (Abbildung 22).

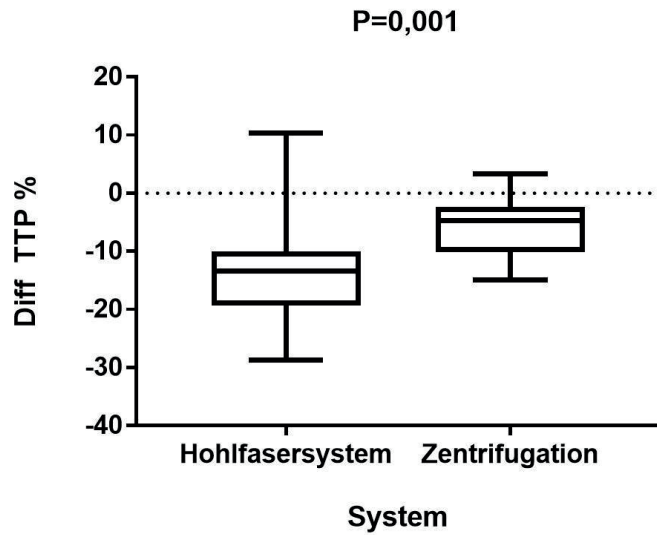


Abbildung 21: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des TTP im Hinblick auf die Plasmagewinnung zwischen den Systemen

Diff = Differenz, TTP = Totalprotein

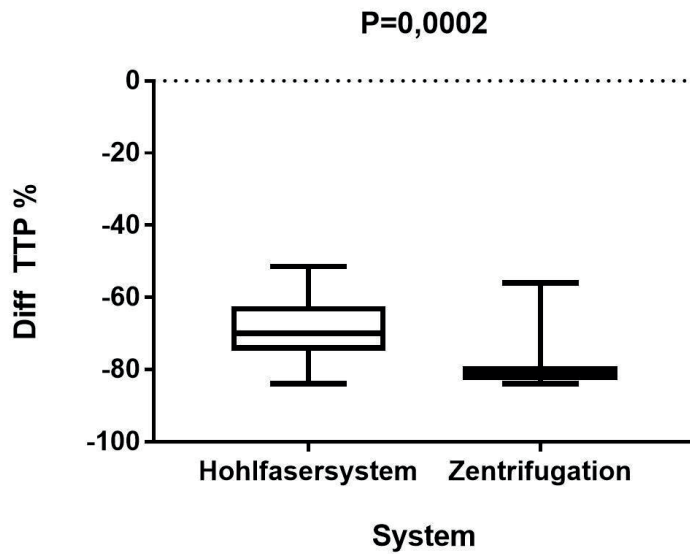


Abbildung 22: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des TTP im Hinblick auf die EK-Gewinnung zwischen den Systemen

Diff = Differenz, TTP = Totalprotein

Albumin (g/L)

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,64$) auf das Albumin (g/L) ausübten. Im Hinblick auf den Entnahmeort sowie auf die Wechselwirkung der Haupteffekte konnte jeweils eine Signifikanz ($p<0,0001$) ausfindig gemacht werden. Für den Entnahmeort "Plasmabeutel" konnte mittels *Sidak's multiple comparison tests* ein signifikanter Unterschied ($p<0,01$) zwischen den Systemen detektiert werden. Das mittels Hohlfasersystem gewonnene Plasma wies eine geringere Albumin Konzentration im Vergleich zum Plasma der Gruppe Zentrifuge auf. Für den Entnahmeort "EK-Beutel" wurden ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen nachgewiesen. Hierbei zeigte die Gruppe Hohlfasersystem höhere Albumin Konzentrationen auf im Vergleich zur Gruppen Zentrifuge (Abbildung 24).

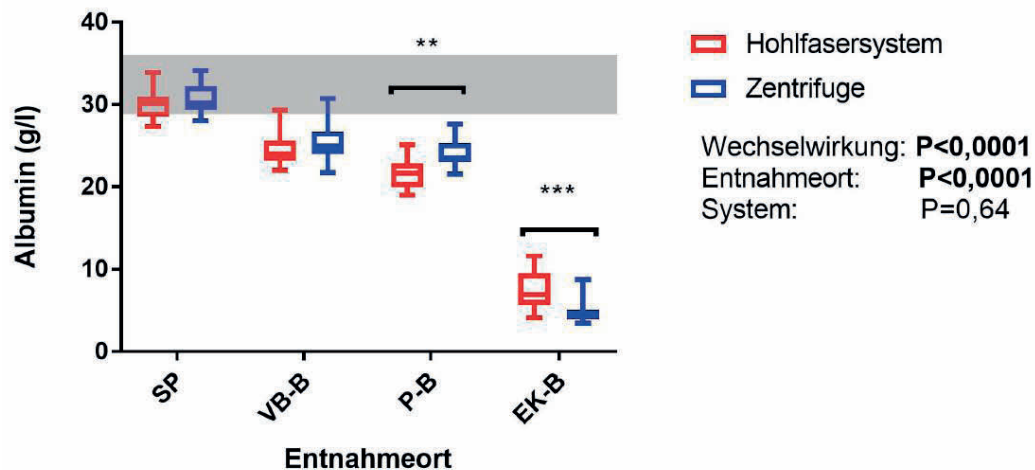


Abbildung 23: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Albumin (g/L) an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Der Referenzbereich ist grau hinterlegt.

Die höchsten Albuminwerte wurden beim Spender gemessen. Im Vollblutbeutel und im Plasmabeutel zeigte sich eine Verringerung des Albumin Gehaltes, wobei die niedrigste Albumin Konzentration im Beutel des EK zu verzeichnen war. Im Plasmabeutel lag der Median für das Albumin der Gruppe Hohlfasersystem bei 21,5 g/l (range 19 - 25,1 g/l) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 23,5 g/l (range 21,5 - 27,6 g/l). Im Beutel des EK wies die Gruppe Hohlfasersystem einen Median von 7 g/l (range 5,3 - 11,6 g/l) auf und die Gruppe Zentrifuge zeigte einen Median von 4,5 g/l (range 3,4 - 8,7 g/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des Albumin Gehaltes (g/L) vom Plasma - und Vollblutbeutel ließ sich mittels *Mann-Whitney-U-Tests* ein signifikanter Unterschied ($p=0,0001$) zwischen den Systemen feststellen. Für die Gruppe Hohlfasersystem zeigte sich eine Verringerung der Albumin Konzentration von 10,9 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (3,1 %) (Abbildung 24). Ebenso konnte ein signifikanter Unterschied ($p<0,0001$) zwischen den Systemen für den Vergleich der prozentualen Differenz des Albumin Gehaltes (g/L) vom EK - und Vollblutbeutel festgestellt werden. Für die Gruppe Hohlfasersystem

ergab sich eine weniger starke Verringerung des Albumin Gehaltes, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 25).

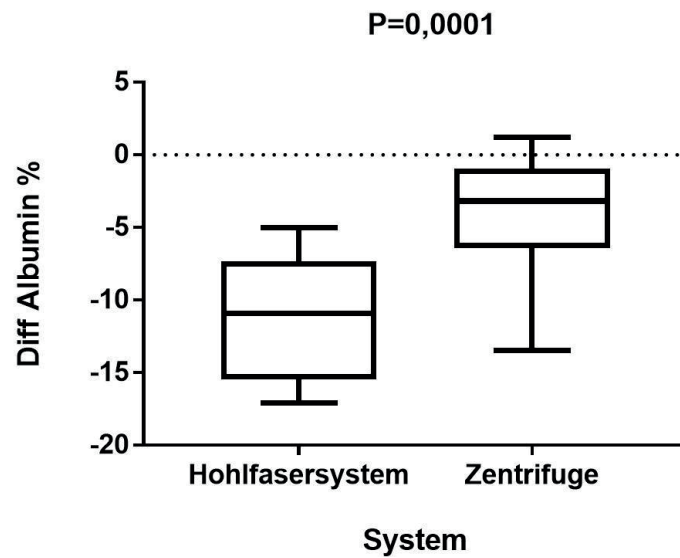


Abbildung 24: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Albumin Gehaltes im Hinblick auf die Plasmagewinnung zwischen den Systemen

Diff = Differenz

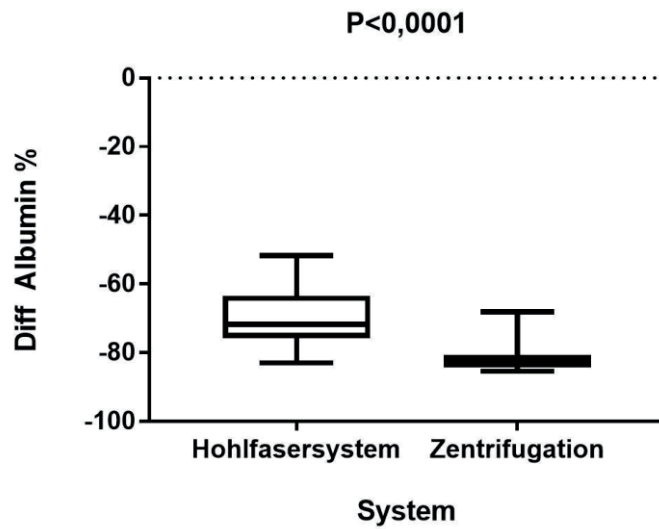


Abbildung 25: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Albumin Gehaltes im Hinblick auf die EK-Gewinnung zwischen den Systemen

Diff = Differenz

Parameter der Elektrophorese

Im Folgenden werden die mittels Elektrophorese erhobenen Ergebnisse dargestellt. Die graphische Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Vollblut - und Plasmabeutel erfolgt (abweichend zu oben) in einer zusammengefassten kompakten Darstellung (Abbildung 32; Seite 73), da sich für alle erhobenen Parameter keine signifikanten Unterschiede feststellen ließen.

Albumin (%)

Wie aus Abbildung 26 ersichtlich, zeigte die Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse weder einen signifikanten Einfluss der Systeme ($p=0,08$) auf den Albumin Gehalt, noch eine Signifikanz im Hinblick auf die Interaktion der Haupteffekte ($p=0,74$). Im Hinblick auf den Entnahmeort ließen sich signifikante Veränderungen ($p<0,0001$) feststellen (Abbildung 26).

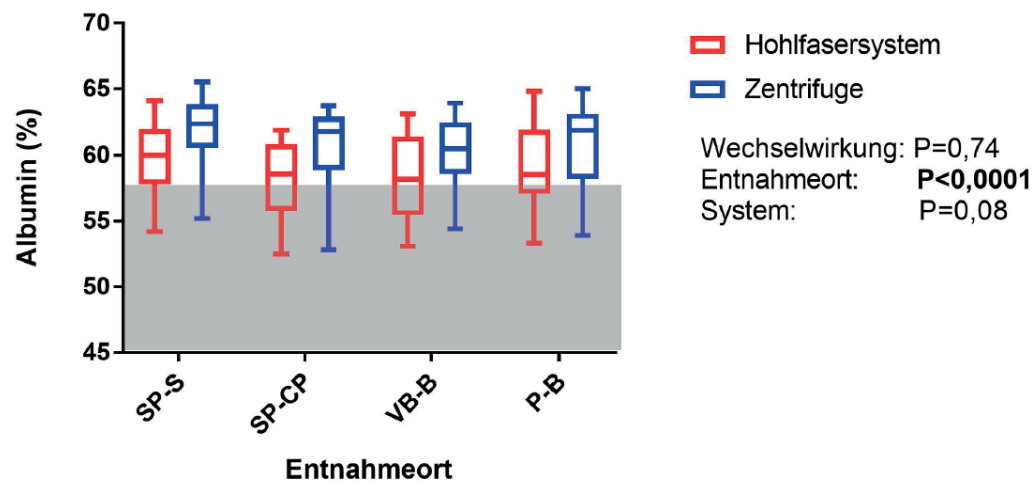


Abbildung 26: Vergleich der Systeme in Bezug auf den Albumin Gehalt (%) an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Vergleich zum Spender (Serum) zeigte sich der Albumin Gehalt in der Probe des Citratplasmas (Spender) und im Vollblutbeutel verringert. In der Gruppe Hohlfasersystem lag der Median für das Albumin beim Spender (Serum) bei 60 % (range 54,2 - 64,1 %) und für die Gruppe Zentrifuge bei 62,4 % (range 55,2 - 65,5 %). Im Vollblutbeutel lag der Median für die Gruppe Hohlfasersystem bei 58,2 % (range 53,1 - 63,1 %) und für die Gruppe Zentrifuge bei 60,5 % (range 54,4 - 63,9 %).

α 1-Globuline

In Bezug auf den Gehalt an α 1-Globulinen ergab sich nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse weder ein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,25$), noch eine signifikante Interaktion ($p=0,12$) der Haupteffekte. Ein signifikanter Effekt ($p=0,03$) hinsichtlich des Entnahmeortes konnte nachgewiesen werden (Abbildung 27).

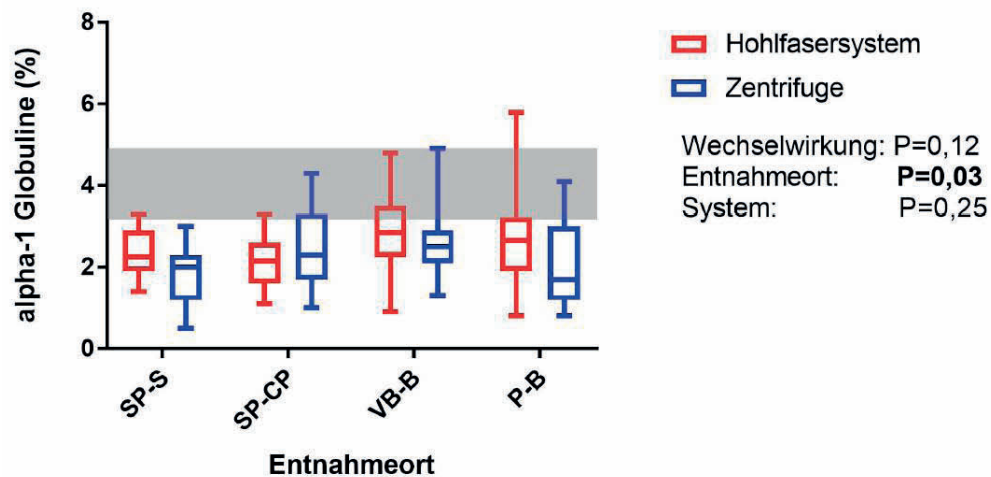


Abbildung 27: Vergleich der Systeme in Bezug auf die alpha-1 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Der höchste Gehalt an α 1-Globulinen konnte im Vollblutbeutel ermittelt werden. Hier lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei 2,85 % (range 0,9 - 4,8 %) und für die Gruppe Zentrifuge bei 2,5 % (range 1,3 - 4,9 %).

α 2-Globuline, β 1-Globuline

Wie aus den Abbildungen 28 und 29 zu entnehmen ist, ergaben sich nach Durchführung der 2-faktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Einflüsse der Systeme auf den Gehalt an alpha-2 Globulinen bzw. β 1-Globulinen. Eine Signifikanz in der Wechselwirkung zwischen den Haupteffekten konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Dies gilt des Weiteren für den Entnahmeort.

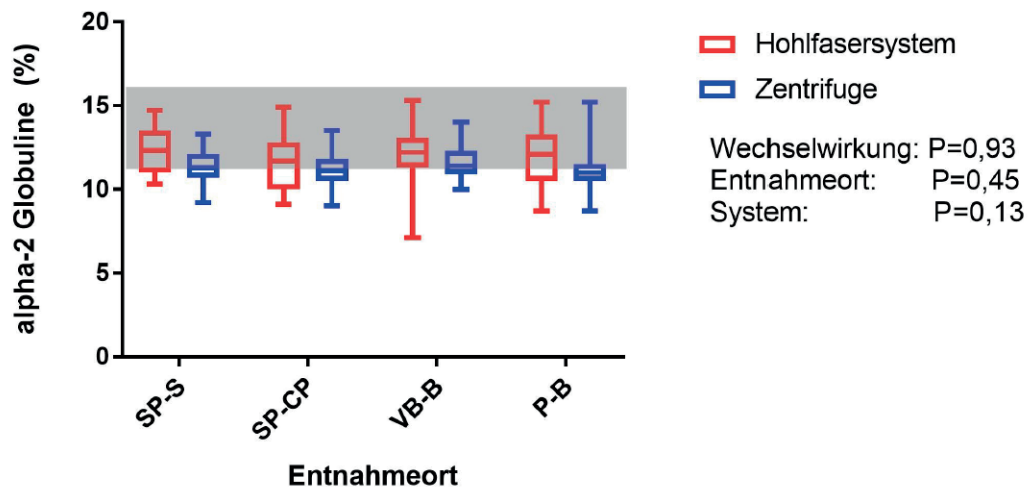


Abbildung 28: Vergleich der Systeme in Bezug auf die alpha-2 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

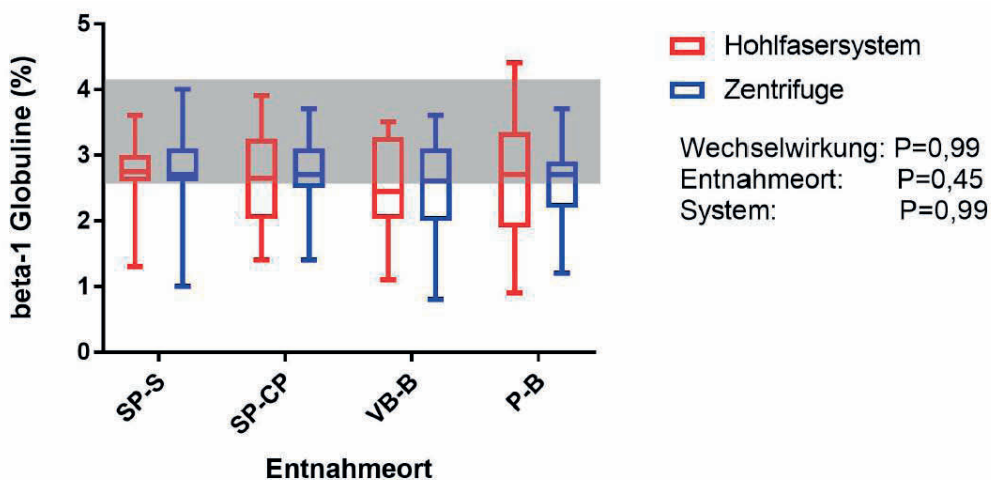


Abbildung 29: Vergleich der Systeme in Bezug auf die beta-1 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

β 2-Globuline

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme ($p=0,38$) keinen signifikanten Einfluss auf die β 2-Globuline ausübten. Es konnte jedoch eine Signifikanz hinsichtlich der Interaktion der Haupteffekte ($p=0,007$), als auch im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$) festgestellt werden (Abbildung 30).

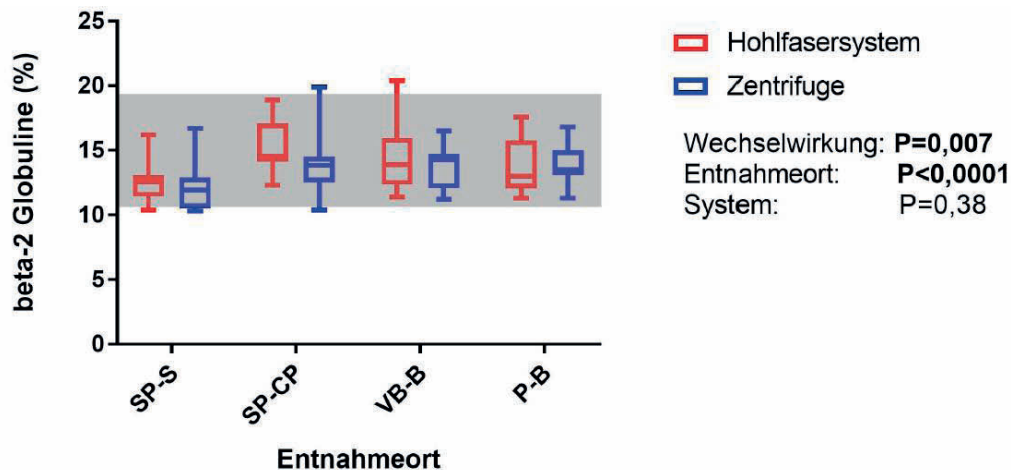


Abbildung 30: Vergleich der Systeme in Bezug auf die β 2 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Vergleich zum Spender (Serum) konnte für das Citratplasma des Spenders ein Anstieg in der Konzentration der β 2-Globuline verzeichnet werden. Für die Gruppe Hohlfasersystem lag der Median hier bei 14,55 % (range 12,3 - 18,9 %) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 13,85 % (range 10,4 - 19,9 %). Für den Plasmabeutel zeigte sich für die Gruppe Hohlfasersystem ein geringerer Median von 13 % (range 11,3 – 17,6 %) im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge, die ein Median von 13,5 % (range 11,3 – 16,8 %) aufwies.

γ -Globuline

Nach Durchführung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergaben sich keine signifikanten Effekte des Systems ($p=0,63$), oder des Entnahmeortes ($p=0,05$) auf den Gehalt an γ -Globulinen. Eine Signifikanz in der Wechselwirkung ($p=0,07$) zwischen den Haupteffekten konnte ebenfalls nicht festgestellt werden (Abbildung 31).

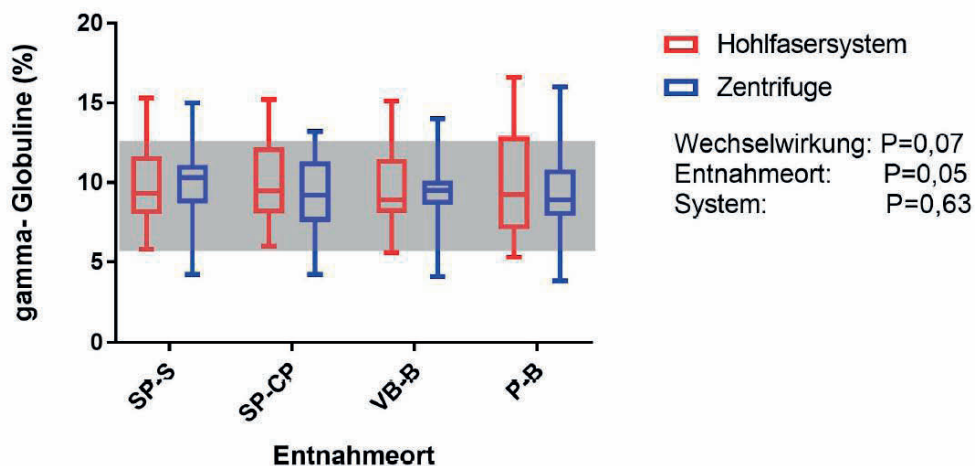


Abbildung 31: Vergleich der Systeme in Bezug auf die gamma-Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP-S = Spender Serum, SP-CP = Spender Citratplasma, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Darstellung der prozentualen Differenz für die Parameter der Elektrophorese zwischen dem VB-Beutel und Plasmabeutel

Im Hinblick auf die prozentuale Differenz ließen sich für die Parameter der Elektrophorese keine Hinweise auf signifikante Unterschiede zwischen den Systemen ausfindig machen (Abbildung 32).

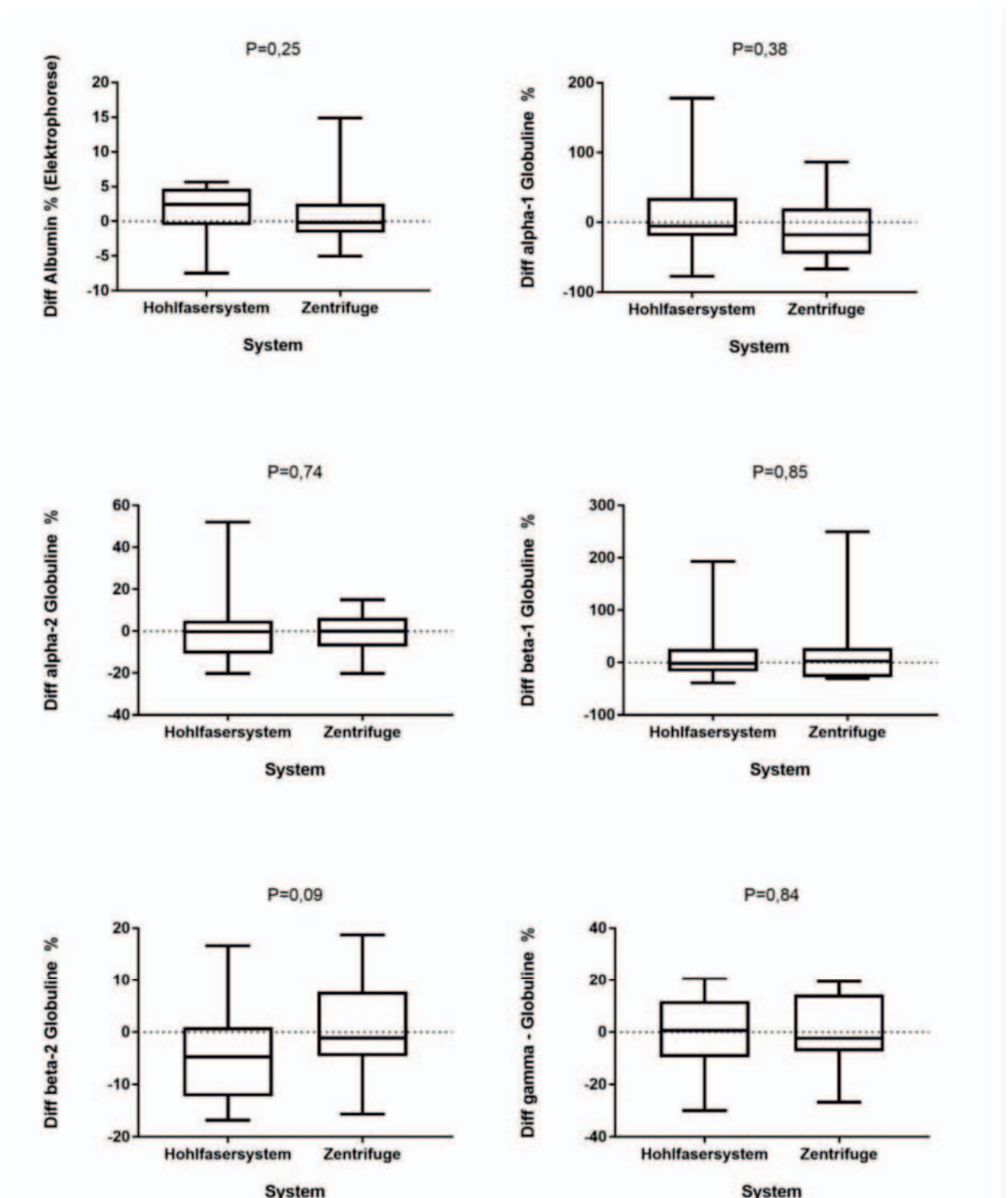


Abbildung 32: Darstellung des prozentualen Unterschiedes für Parameter der Elektrophorese zwischen den Systemen

Zelluläre Parameter

Hämatokrit (Hkt)

Im Rahmen der statistischen Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab sich, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,06$) auf den Hkt ausübten. Es zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$), als auch eine Signifikanz für die Wechselwirkung der Haupteffekte ($p=0,0026$). Für den Entnahmeort "EK-Beutel" ließ sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* ein signifikant ($p<0,01$) geringerer Hkt im mittels Hohlfasersystem gewonnenen EKs feststellen, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 33).

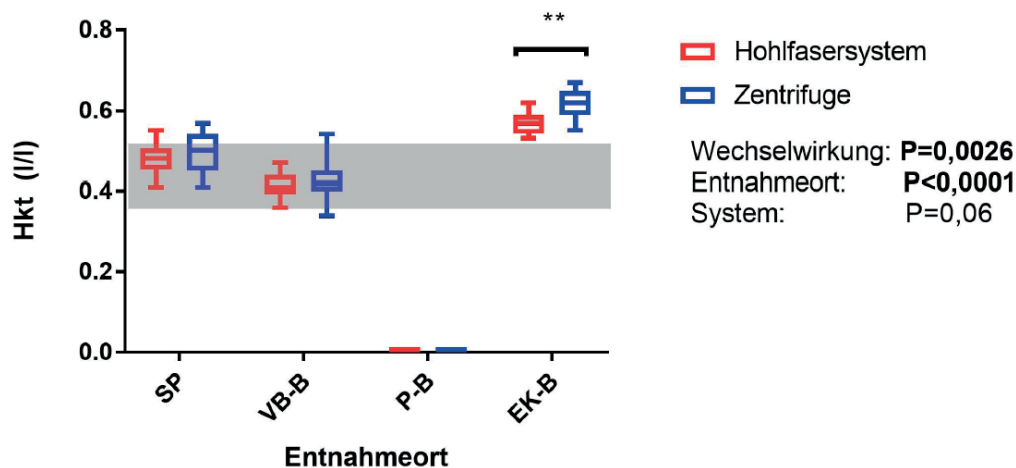


Abbildung 33. Vergleich der Systeme in Bezug auf den Hkt an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Hkt = Hämatokrit, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Der Median des Hkt lag beim Spender bei der Gruppe Hohlfasersystem bei 0,48 l/l (range 0,41 - 0,55 l/l) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 0,5 l/l (range 0,41 - 0,57 l/l). Im Vollblutbeutel sank der Hkt weiter ab und hatte die niedrigsten Werte im Plasmabeutel. Hier lag der Median des Hkt bei beiden Systemen bei 0 l/l. Der höchste Hkt wurde im EK-Beutel gemessen. Der Median lag bei der Gruppe des Hohlfasersystems bei 0,57 l/l (range 0,53 - 0,62 l/l) und bei der Gruppe der Zentrifuge bei 0,62 l/l (range 0,55 - 0,67 l/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des Hkt vom EK - und VB-Beutel ergab sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ($p=0,04$), welcher mittels *Mann-Whitney-U-Test* detektiert wurde. Für die Gruppe Zentrifuge ließ sich ein höherer Hkt (47,7 %) feststellen, im Vergleich zum Hohlfasersystem (38,2 %) (Abbildung 34).

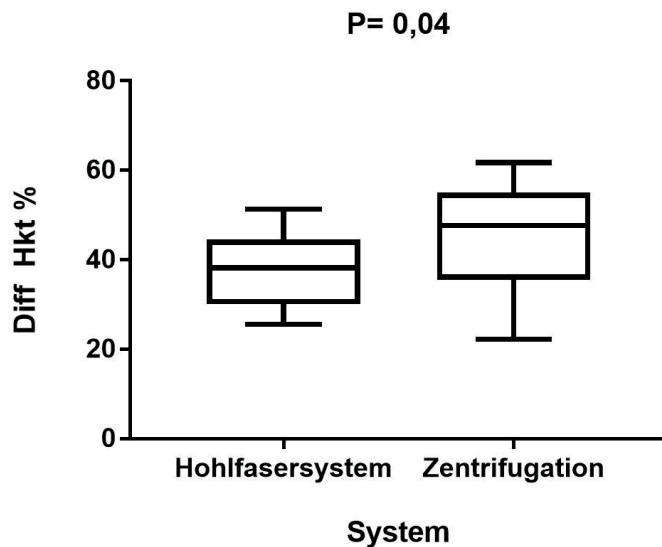


Abbildung 34: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Hkt zwischen den Systemen

Diff = Differenz, Hkt=Hämatokrit

Hämoglobin (Hb)

Anhand der Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ließen sich keine signifikanten Einflüsse der Systeme ($p=0,08$) auf das Hb feststellen. Es zeigte sich jedoch eine signifikante Interaktion ($p=0,05$) des Entnahmeortes in Zusammenhang mit dem System. Im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$) konnte ebenfalls eine signifikante Auswirkung auf den Hb Gehalt detektiert werden. Für den EK-Beutel zeigte sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* eine Signifikanz für den Unterschied zwischen den Systemen. Der Hb-Gehalt war bei der Gruppe Hohlfasersystem im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge geringer (Abbildung 35).

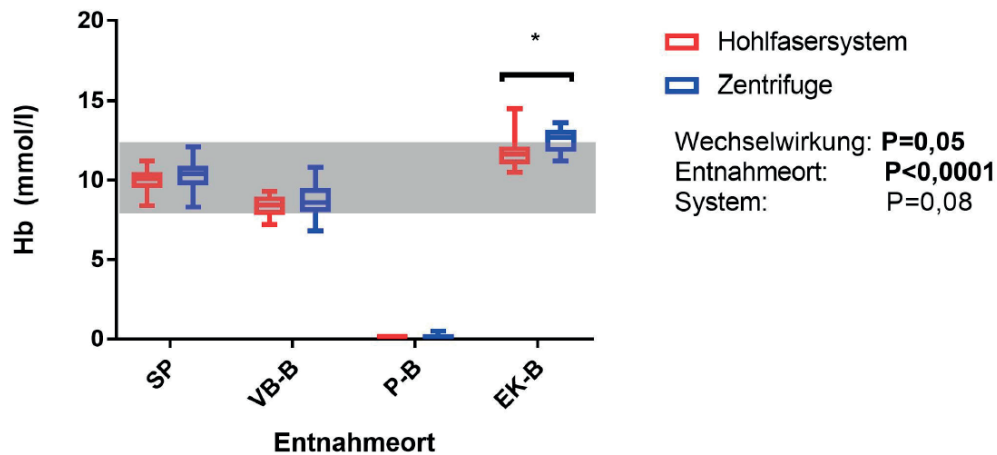


Abbildung 35: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Hb an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Vom Ausgangswert im Spender über den Vollblutbeutel hin zum Plasmabeutel ergab sich eine Verringerung des Hb-Gehaltes. Die niedrigsten Hb-Werte wurden im Plasmabeutel gemessen. Hier lag der Median des Hb-Gehaltes der Gruppe Hohlfasersystem, als auch von der Gruppe Zentrifuge bei 0 mmol/l. Im EK-Beutel war der Median des Hb-Gehaltes am höchsten. Für das Hohlfasersystem konnte ein Median von 11,6 mmol/l (range 10,5 - 14,5 mmol/l) ermittelt werden und für die Gruppe Zentrifuge ein Median von 12,7 mmol/l (range 11,2 - 13,6 mmol/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des Hb vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,23$) zwischen den Systemen (Abbildung 36).

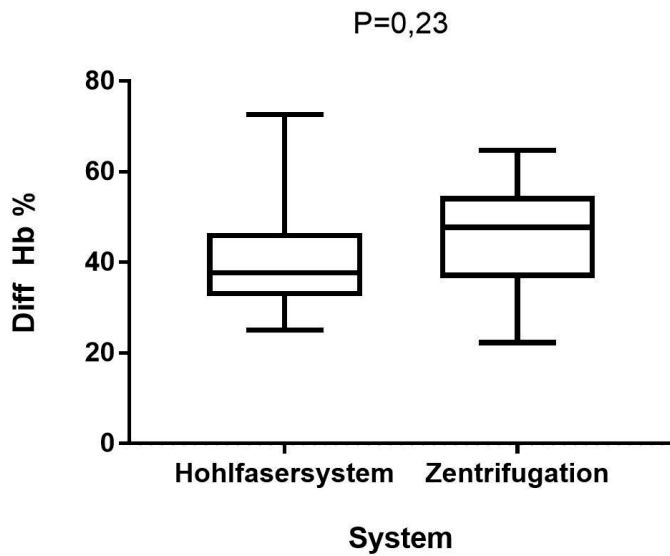


Abbildung 36: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Hb zwischen den Systemen

Diff = Differenz, Hb= Hämoglobin

Mittlere korpuskuläre Hemoglobinkonzentration / Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)

Nach Durchführung der 2-faktoriellen Varianzanalyse konnte gezeigt werden, dass beide Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,35$) auf das MCHC ausübten. Das MCHC veränderte sich jedoch signifikant ($p<0,0001$) im Plasmabeutel im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten. Eine Signifikanz im Hinblick auf die Wechselwirkung zeigte sich nicht ($p=0,28$) (Abbildung 37).

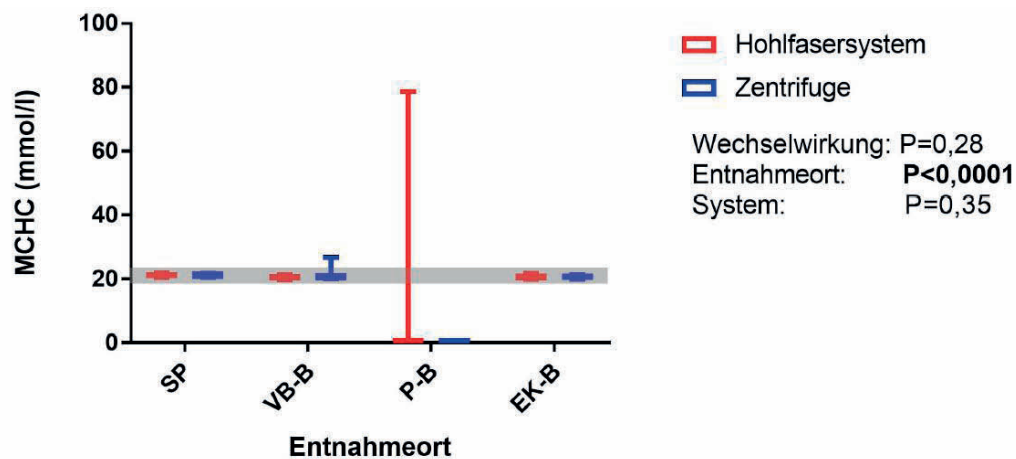


Abbildung 37: Vergleich der Systeme in Bezug auf das MCHC an den unterschiedlichen Entnahmeorten

MCHC = Mittlere korpuskuläre Hemoglobinkonzentration

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel,

EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Die Mediane des MCHC vom Spender, dem Vollblutbeutel und EK-Beutel waren vergleichbar und lagen jeweils im Referenzbereich von 20,82 - 23,53 mmol/l. Im Plasmabeutel lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei 0 mmol/l (range 0 - 78,67 mmol/l), ebenso wie der Median der Gruppe Zentrifuge. Bei der Gruppe Hohlfasersystem ließ sich im Plasmabeutel ein Ausreißer detektieren.

Im Hinblick auf den Vergleich der prozentualen Differenz des MCHC vom EK-Beutel und Vollblutbeutel ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Systemen (Abbildung 38).

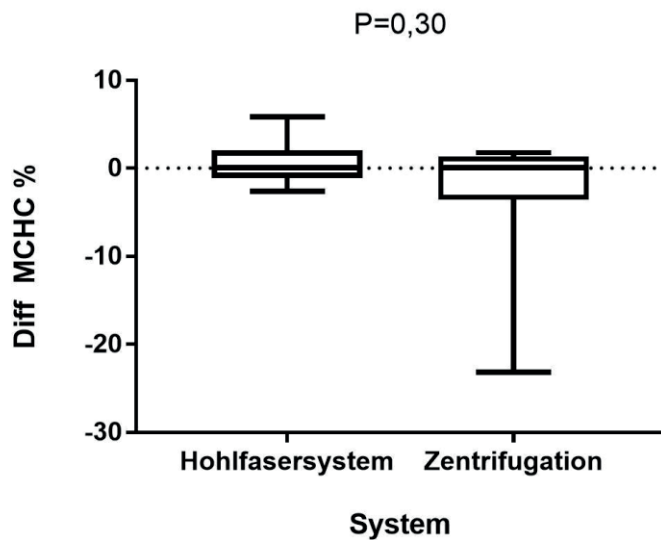


Abbildung 38: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des MCHC zwischen den Systemen

Diff = Differenz, MCHC = Mittlere korpuskuläre Hemoglobinkonzentration

Mittlere gemessene korpuskuläre Hemoglobinkonzentration / Cell Hemoglobin Concentration Mean (CHCM)

Die statistische Auswertung des 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme ($p=0,94$) keinen signifikanten Einfluss auf das CHCM ausübten. Anhand der Abbildung 39 ist zu entnehmen, dass für den CHCM Gehalt ebenfalls keine signifikanten Veränderungen im Spender, Vollblut-, Plasma-, und EK-Beutel feststellbar waren. Eine Signifikanz im Bezug auf die Wechselwirkung der Haupteffekte ($p=0,99$) war ebenfalls nicht nachweisbar.

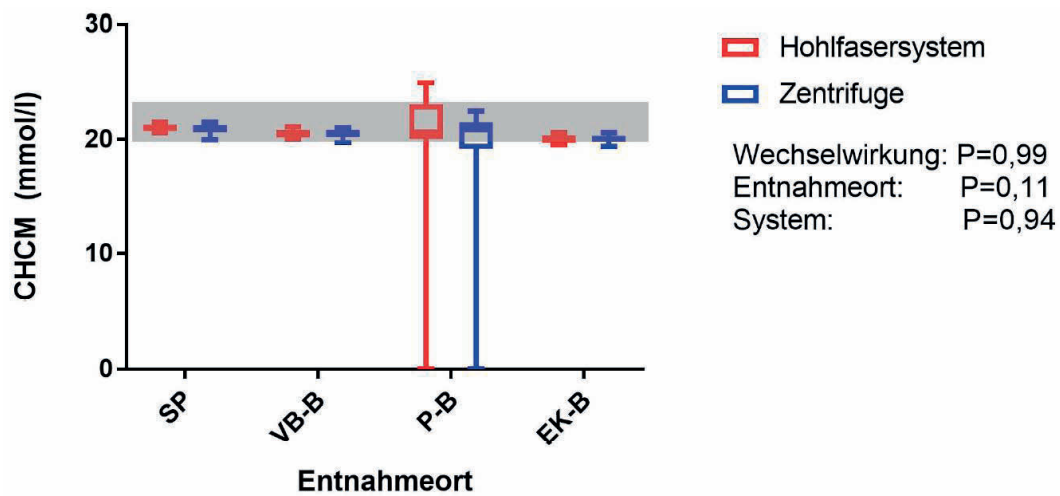


Abbildung 39: Vergleich der Systeme in Bezug auf das CHCM an den unterschiedlichen Entnahmeorten

CHCM = Mittlere gemessene korpuskuläre Hemoglobinkonzentration

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel,

EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Die Mediane des CHCM lagen an den jeweiligen Entnahmeorten alle im Referenzbereich von 20,82 - 23,53 mmol/l. Im Plasmabeutel lag der Median für das Hohlfasersystem bei 20,42 mmol/l (range 0 - 24,95 mmol/l). Für die Gruppe Zentrifuge konnte im Plasmabeutel ein Median von 20,85 mmol/l (range 0 - 22,46 mmol/l) ermittelt werden.

Der Vergleich der prozentualen Differenz des CHCM vom EK - und Vollblutbeutel ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Systemen (Abbildung 40).

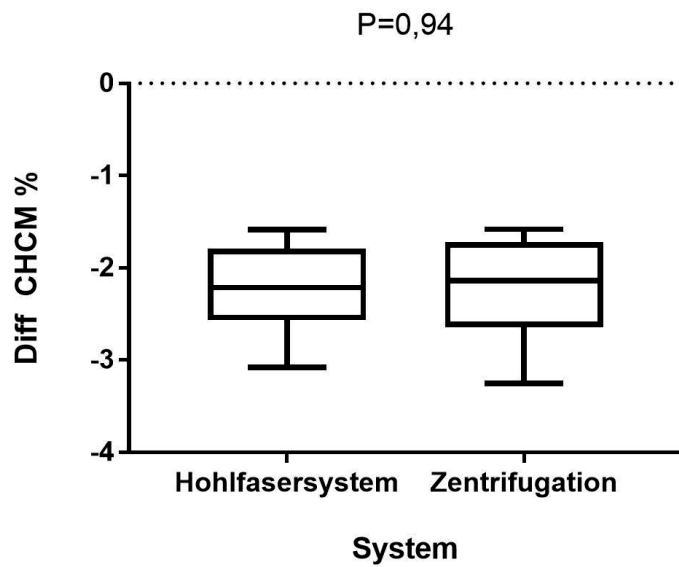


Abbildung 40: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des CHCM zwischen den Systemen

Diff = Differenz, CHCM= Mittlere gemessene korpuskuläre Hemoglobinkonzentration

Mittleres korpuskuläres Volumen / Mean Cell Volume (MCV)

Nach Durchführung der 2-faktoriellen Varianzanalyse konnte kein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,22$) auf das MCV festgestellt werden, ebenso wenig ergab sich keine Signifikanz für die Wechselwirkung zwischen den Haupteffekten ($p=0,23$). Für den Entnahmeort ($p=0,0017$) ließ sich ein signifikanter Einfluss auf das MCV detektieren (Abbildung 41).

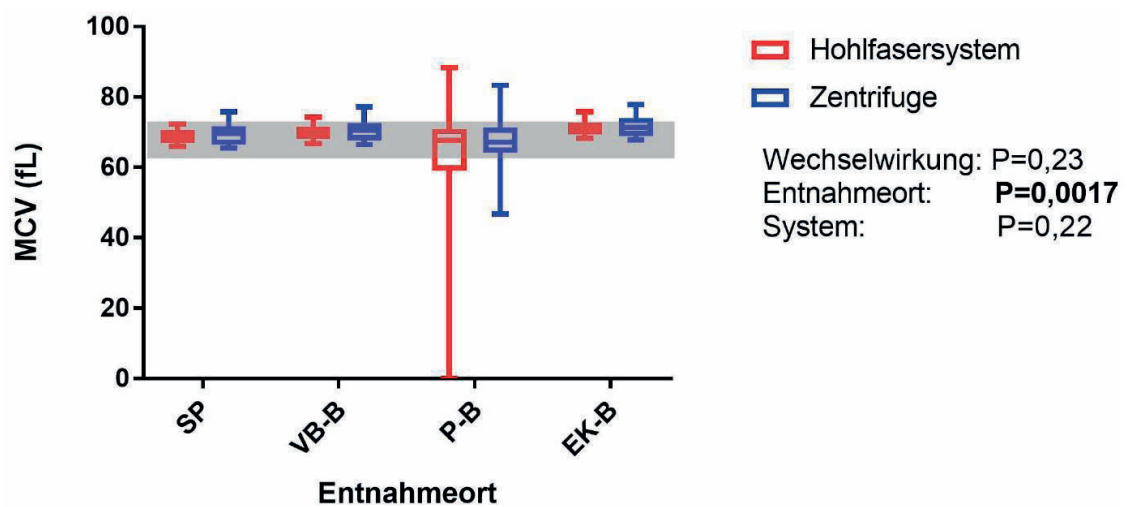


Abbildung 41: Vergleich der Systeme in Bezug auf das MCV an den unterschiedlichen Entnahmeorten

MCV = Mittleres korpuskuläres Volumen, Entnahmeorte: SP = Spender,

VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel.

Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Für das MCV konnte eine Signifikanz ($p=0,0017$) hinsichtlich des Entnahmeortes festgestellt werden. Der Median des MCV im Plasmabeutel betrug für das Hohlfasersystem 66,9 fL (range 0 - 88,3 fL) und für die Gruppe Zentrifuge 67,1 fL (range 46,8 - 83,3 fL). Im Vergleich dazu lagen die Mediane des MCV vom Spender, dem Vollblutbeutel sowie aus dem EK - Beutel darüber.

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des MCV vom EK - und Vollblutbeutel konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Systemen festgestellt werden (Abbildung 42).

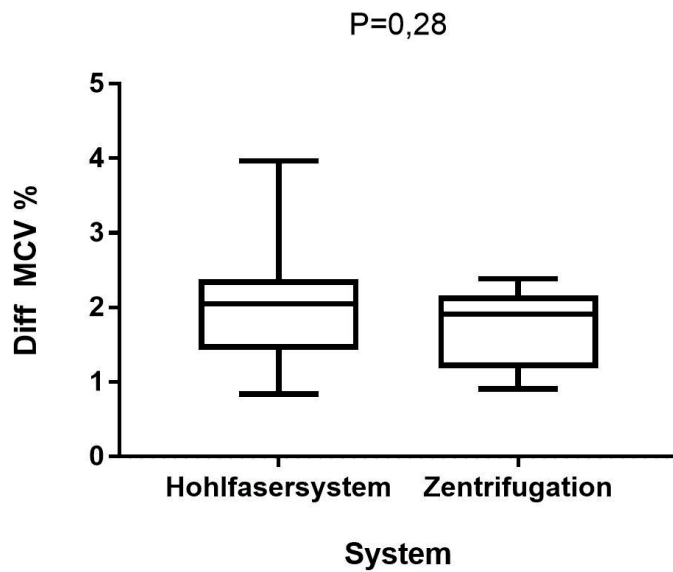


Abbildung 42: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des MCV zwischen den Systemen

Diff = Differenz, MCV = Mittleres korpuskuläres Volumen

Erythrozyten / Red Blood Cells (RBC)

Die verwendeten Systeme zeigten nach der statistischen Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse keinen signifikanten Einfluss ($p=0,15$) auf die Erythrozyten. Es zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede im Hinblick auf den Entnahmeort ($p<0,0001$), als auch eine Signifikanz ($p=0,05$) für die Wechselwirkung zwischen Entnahmeort und System.

Für den Entnahmeort "EK - Beutel" ließ sich mittels *Sidak's multiple comparison tests* eine signifikant geringere Konzentration an Erythrozyten im mittels Hohlfasersystem gewonnenen EK feststellen, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (Abbildung 43).

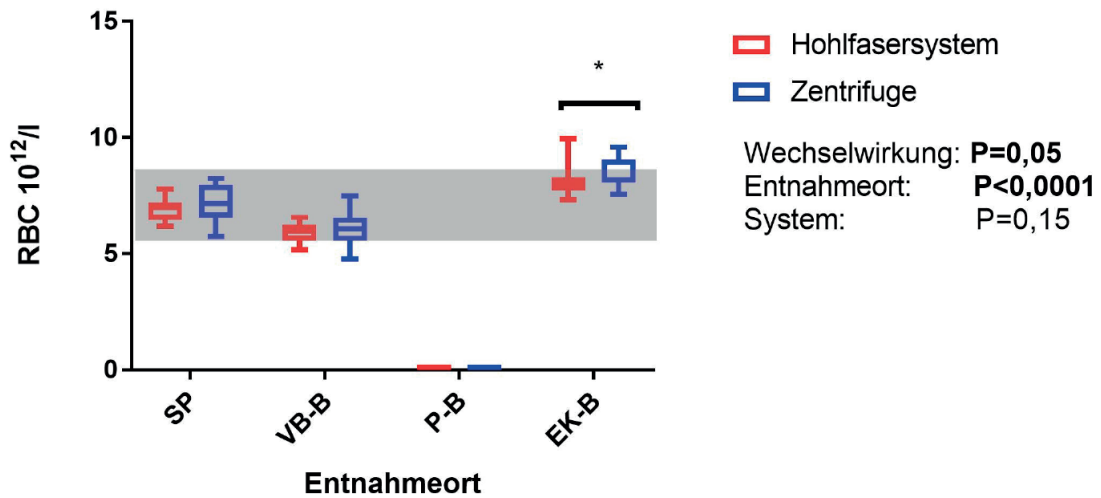


Abbildung 43: Vergleich der Systeme in Bezug auf die RBC an den unterschiedlichen Entnahmeorten

RBC = Erythrozyten, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Vom Ausgangswert im Spender über den Vollblutbeutel bis zum Plasmabeutel zeigte sich ein Absinken in der Konzentration der Erythrozyten, wobei die tiefsten Werte im Plasmabeutel gemessen wurden. Hier lag der Median der RBC der Gruppe Hohlfasersystemsowie der Median der Gruppe Zentrifuge bei $0 \times 10^{12}/l$. Der höchste Gehalt an Erythrozyten konnte im EK-Beutel gemessen werden. Hier lag der Median für das Hohlfasersystem bei $8,0 \times 10^{12}/l$ (range 7,3 - $9,9 \times 10^{12}/l$). Der Median für das System der Zentrifuge lag bei $8,9 \times 10^{12}/l$ (range 7,5 - $9,5 \times 10^{12}/l$). Mit Ausnahme der Werte im Plasmabeutel lag der Median der RBC an allen Entnahmeorten im Referenzbereich von $5,5 - 8,5 \times 10^{12}/l$.

Für den Vergleich der prozentualen Differenz der RBC vom EK - und Vollblutbeutel konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ausfindig gemacht werden (Abbildung 44).

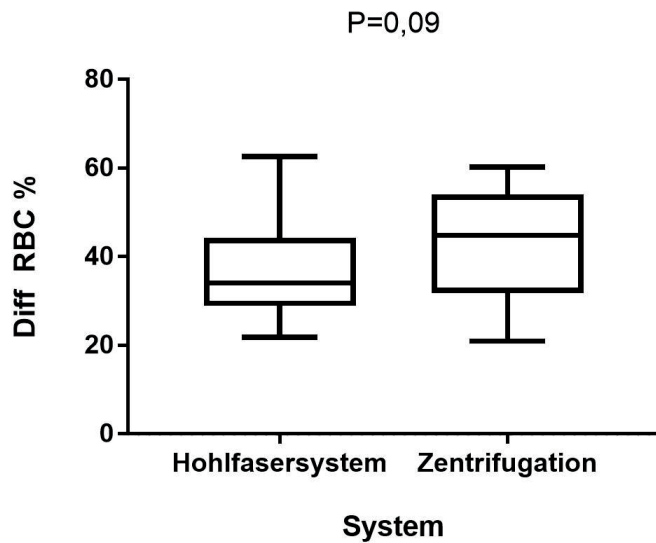


Abbildung 44: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der RBC zwischen den Systemen

Diff = Differenz, RBC = Erythrozyten

Thrombozyten / Platelets (PLT)

Nach Durchführung der 2-faktoriellen Varianzanalyse zeigte sich weder ein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,80$) auf den Gehalt an Thrombozyten, noch eine Signifikanz im Hinblick auf die Wechselwirkung ($p=0,94$) zwischen Entnahmeort und System. Für den Entnahmeort alleine ließ sich ein signifikanter Effekt ($p<0,0001$) auf die Thrombozyten feststellen (Abbildung 45).

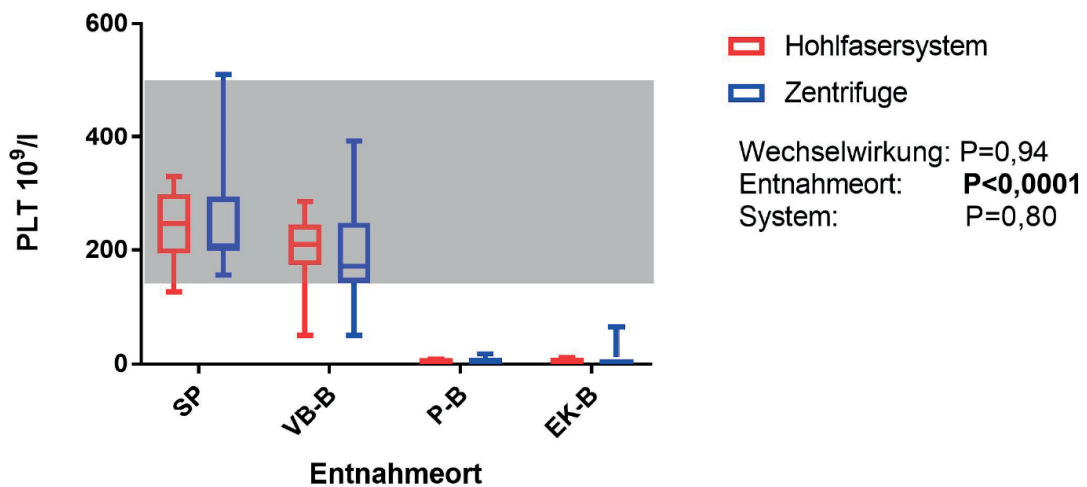


Abbildung 45: Vergleich der Systeme in Bezug auf die PLT an den unterschiedlichen Entnahmeorten

PLT = Thrombozyten, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Der Gehalt an Thrombozyten verringerte sich signifikant ($p < 0,0001$) vom Vollblutbeutel hin zum Plasma - und EK - Beutel. Die höchsten Gehalte an Thrombozyten waren im Spender zu verzeichnen. Im Vergleich dazu, wurden im Vollblutbeutel niedrigere Gehalte an Thrombozyten gemessen. Dort betrug der Median der PLT der Gruppe Hohlfasersystem $209,5 \times 10^9/l$ (range 49 - $285 \times 10^9/l$) und für die Gruppe Zentrifuge $171 \times 10^9/l$ (range 49 - $392 \times 10^9/l$). Die Anzahl der Thrombozyten im Plasmabeutel und im EK - Beutel waren ähnlich und zeigten die niedrigsten Gehalte an Thrombozyten. Im EK - Beutel lag der Median bei der Gruppe Hohlfasersystem bei $3 \times 10^9/l$ (range 0 - $11 \times 10^9/l$). Unter Verwendung der Zentrifuge lag der Median der Thrombozyten bei $4 \times 10^9/l$ (range 2 - $64 \times 10^9/l$).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der PLT vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p = 0,01$) zwischen den Systemen, welcher mittels *Mann-Whitney-U-Tests* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine

Verringerung der PLT von 98,5 % im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (96,9 %) nachweisen (Abbildung 46).

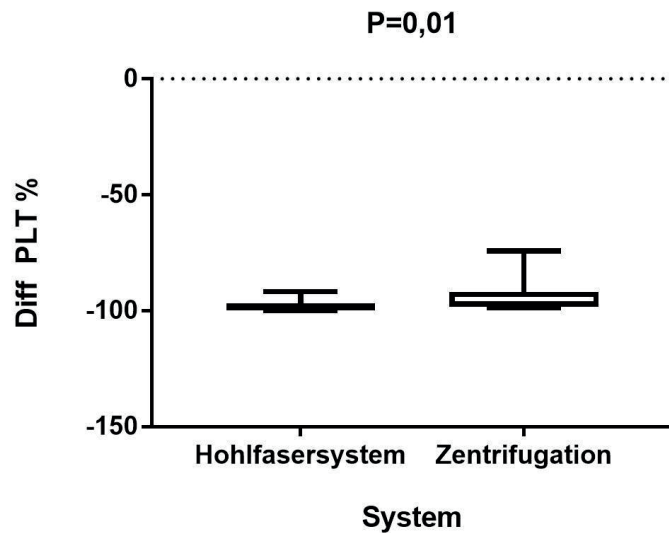


Abbildung 46: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der PLT zwischen den Systemen

Diff = Differenz, PLT= Thrombozyten

Leukozyten / White Blood Cells (WBC)

Wie auch bei den Thrombozyten zeigte sich für die Leukozyten kein signifikanter Einfluss des Systems ($p=0,60$). Eine signifikante Interaktion zwischen dem System und Entnahmeort konnte ebenfalls ausgeschlossen werden. Im Unterschied hierzu konnte ein signifikanter Effekt ($p<0,0001$) des Entnahmeortes in Bezug auf den Leukozytengehalt festgestellt werden (Abbildung 47).

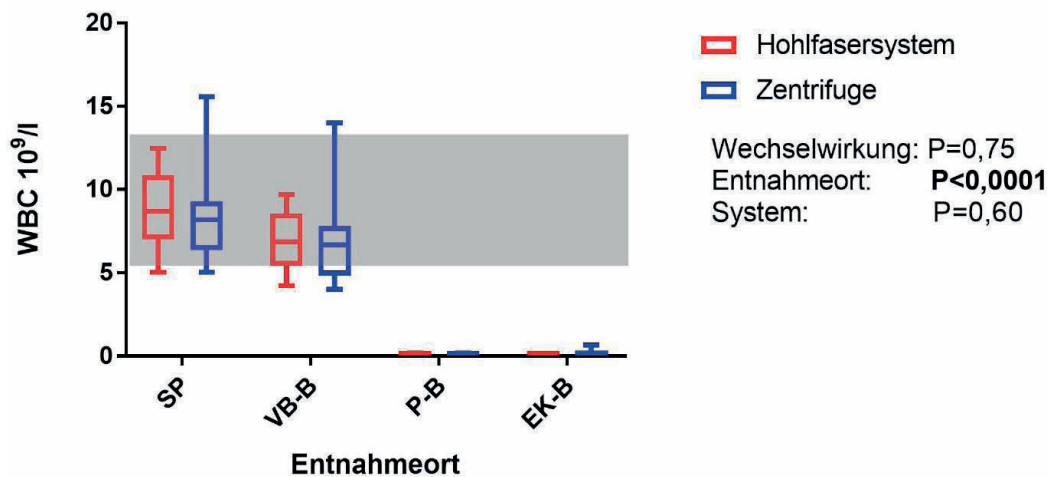


Abbildung 47: Vergleich der Systeme in Bezug auf die WBC an den unterschiedlichen Entnahmeorten

WBC = Leukozyten, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, P-B = Plasmabeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Vergleich zum Ausgangswert des Spenders wurde im Vollblutbeutel ein niedriger Leukozytengehalt gemessen. Hier lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei $6,86 \times 10^9/l$ (range $4,22 - 9,69 \times 10^9/l$) und für die Gruppe Zentrifuge bei $6,67 \times 10^9/l$ (range $3,99 - 14 \times 10^9/l$). Die Leukozytenghalte im Plasmabeutel und im EK - Beutel waren vergleichbar. Hier wurden die geringsten Leukozytenghalte gemessen. Im Beutel des EK lag der Median beim Einsatz des Hohlfasersystems bei $0,01 \times 10^9/l$ (range $0 - 0,1 \times 10^9/l$) und bei der Gruppe Zentrifuge bei $0,05 \times 10^9/l$ (range $0,01 - 0,65 \times 10^9/l$).

Bei der Betrachtung der prozentualen Differenz der WBC vom EK - und Vollblutbeutel konnte mittels *Mann-Whitney-U-Test* ein signifikanter Unterschied ($p=0,002$) zwischen den Systemen ausfindig gemacht werden (Abbildung 48).

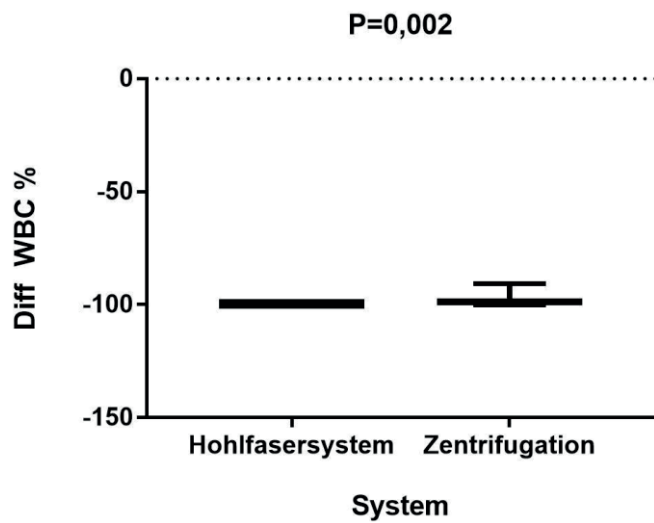


Abbildung 48: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der WBC zwischen den Systemen

Diff = Differenz, WBC = Leukozyten

Weitere Parameter

Phosphor (P)

Nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ließ sich kein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,29$) auf den Phosphor Gehalt nachweisen. Eine Signifikanz für die Interaktion der Haupteffekte ($p=0,46$) war ebenfalls nicht ersichtlich. Hinsichtlich des Entnahmeortes zeigte sich ein signifikanter Einfluss ($p<0,0001$) auf den Phosphor Gehalt (Abbildung 49).

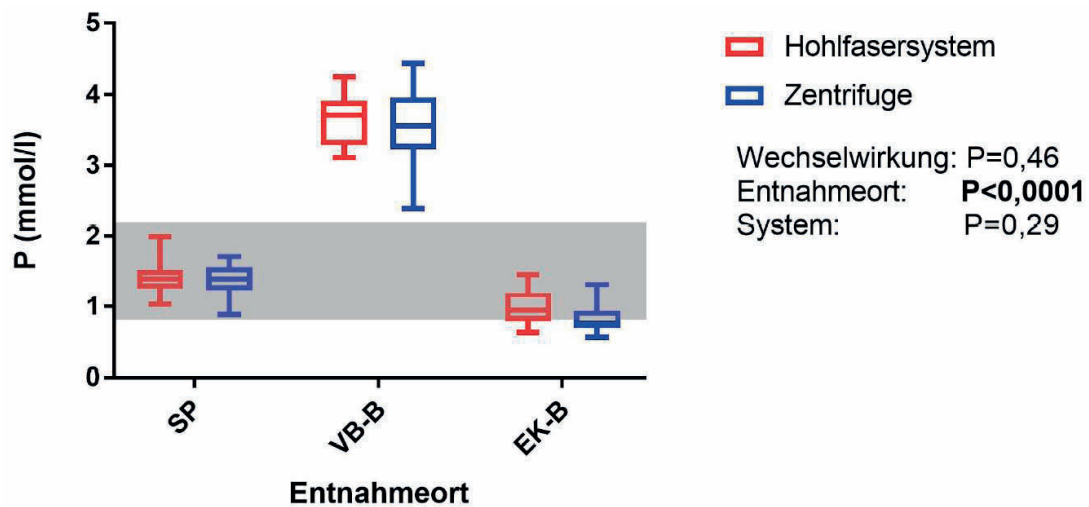


Abbildung 49: Vergleich der Systeme in Bezug auf das P an den unterschiedlichen Entnahmeorten

P = Phosphor, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel,

EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Vergleich zum Ausgangswert des Spenders konnte ein Anstieg der P-Konzentration im Vollblutbeutel detektiert werden. Hier lag der Median für die Gruppe Hohlfasersystem bei 3,71 mmol/l (range 3,11 - 4,24 mmol/l) und für die Gruppe Zentrifuge bei 3,56 mmol/l (range 2,39 - 4,43 mmol/l). Die niedrigste P-Konzentration wurde im EK-Beutel gemessen, welche geringer war als im Vollblutbeutel. Der Median des Phosphors für die Gruppe Hohlfasersystem lag im EK-Beutel bei 1 mmol/l (range 0,63 - 1,45 mmol/l) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 0,76 mmol/l (range 0,56 - 1,31 mmol/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des P vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,08$) zwischen den Systemen (Abbildung 50).

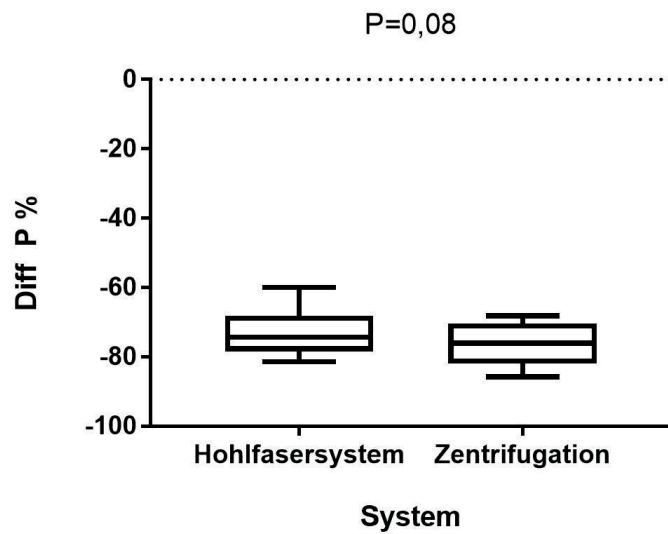


Abbildung 50: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des P zwischen den Systemen

Diff = Differenz, P = Phosphor

Kalium

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass weder die Systeme ($p=0,55$), noch die Interaktion der Haupteffekte ($p=0,15$) einen signifikanten Einfluss auf das Kalium ausübten. Die Kalium Konzentration veränderte sich jedoch signifikant ($p<0,0001$) an den unterschiedlichen Entnahmeorten (Abbildung 51).

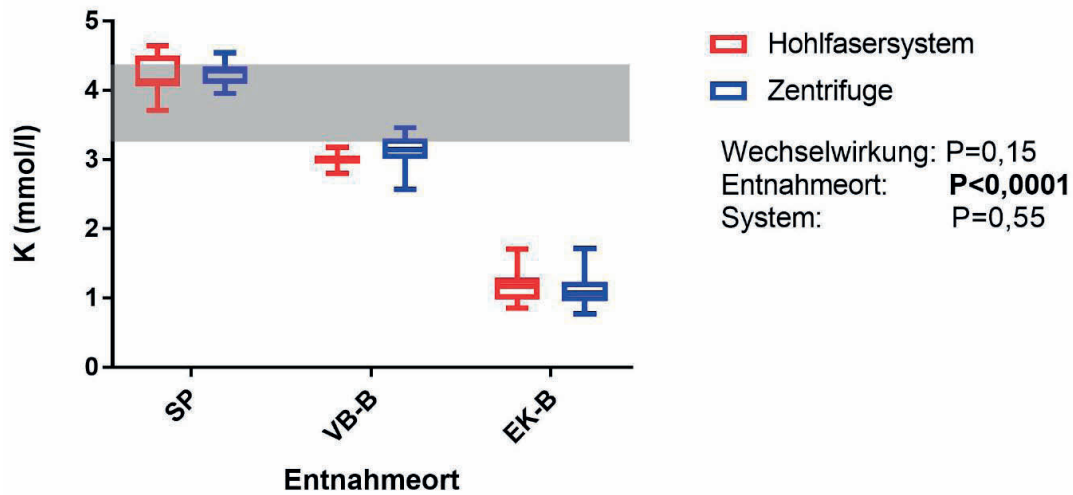


Abbildung 51: Vergleich der Systeme in Bezug auf das K an den unterschiedlichen Entnahmeorten

K = Kalium, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Spender ließen sich die höchsten Kalium Gehalte feststellen. Im Vergleich dazu wurden im Vollblutbeutel geringere Kalium Konzentrationen gemessen. Für die Gruppe Hohlfasersystem lag hier ein Median von 2,99 mmol/l (range 2,8 - 3,18 mmol/l) vor und für die Gruppe Zentrifuge befand sich der Median bei 3,14 mmol/l (range 2,57 - 3,46 mmol/l). Im EK-Beutel konnten die tiefsten Kaliumwerte gemessen werden. Die Gruppe Hohlfasersystem wies hier einen Median von 1,18 mmol/l (range 0,85 - 1,71 mmol/l) auf und die Gruppe Zentrifuge einen Median von 1,07 mmol/l (range 0,77 - 1,72 mmol/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des Kaliums vom EK - und Vollblutbeutel ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Systemen (Abbildung 52).

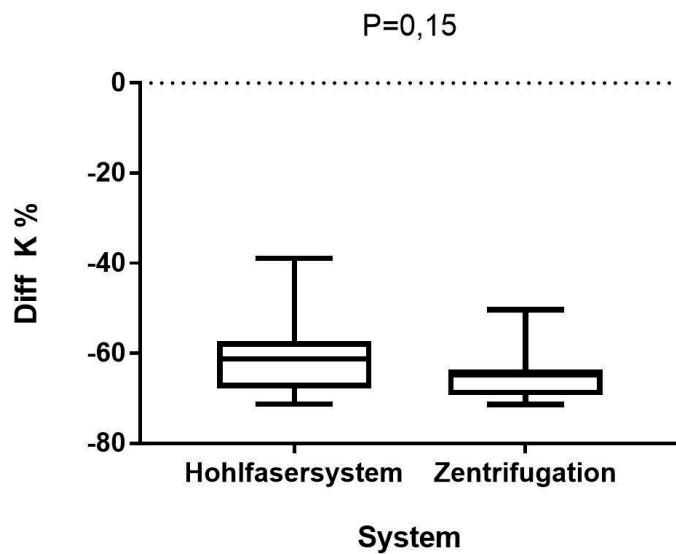


Abbildung 52: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Kaliums zwischen den Systemen

Diff = Differenz, K = Kalium

LDH

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse zeigte, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,16$) auf die LDH ausübten. Ebenfalls war weder eine Signifikanz im Hinblick auf den Entnahmeort ($p=0,79$), noch bezüglich der Interaktion der Haupteffekte ($p=0,53$) nachweisbar (Abbildung 53).

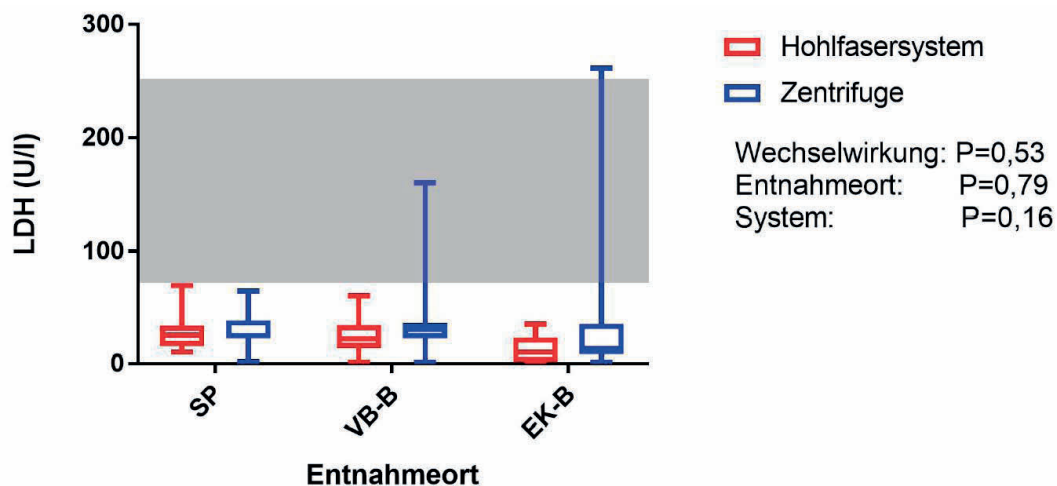


Abbildung 53: Vergleich der Systeme in Bezug auf die LDH an den unterschiedlichen Entnahmeorten

LDH = Laktatdehydrogenase, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Die Mediane der LDH im Spender und Vollblutbeutel waren vergleichbar. Im Vollblutbeutel wies die Gruppe Hohlfasersystem einen Median von 22 U/l (range 1 - 60 U/l) und die Gruppe Zentrifuge einen Median von 30 U/l (range 1 - 160 U/l) auf. Im EK-Beutel konnte ein Median für die Gruppe Hohlfasersystem von 12,5 U/l (range 1 - 35 U/l) festgestellt werden und für die Gruppe Zentrifuge 13 U/l (range 1 - 261 U/l). Der Median an allen unterschiedlichen Entnahmeorten lag unterhalb des Referenzbereichs von 85,7 - 255 U/l.

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der LDH vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,87$) zwischen den Systemen. Für die Gruppe Zentrifugation konnte ein Ausreißer nachgewiesen werden (Abbildung 54).

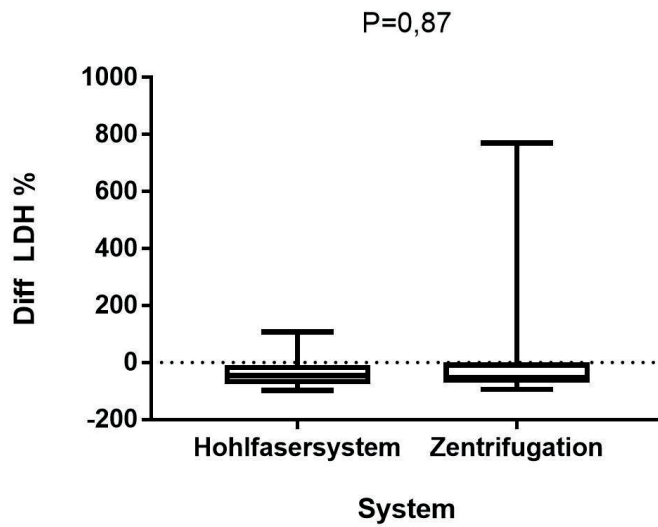


Abbildung 54: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der LDH zwischen den Systemen

Diff = Differenz, LDH = Laktatdehydrogenase

pH-Wert

Im Hinblick auf den pH-Wert ergab sich nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse kein signifikanter Einfluss der Systeme ($p=0,43$). Gleiches gilt ebenfalls für die Interaktion der Haupteffekte ($p=0,41$). Einzig für den Entnahmeort ($p<0,0001$) konnte ein signifikanter Einfluss auf den pH-Wert nachgewiesen werden (Abbildung 55).

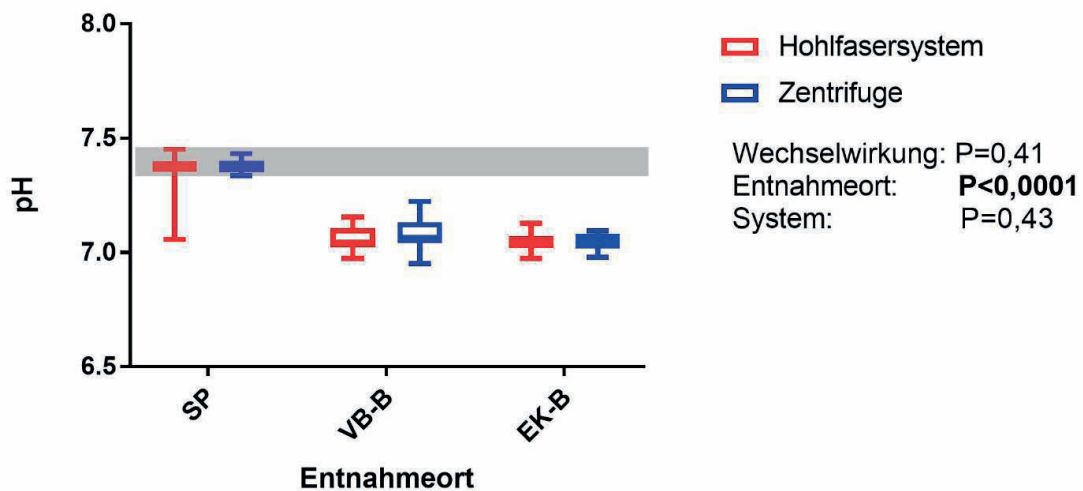


Abbildung 55: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pH-Wert an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Der höchste pH-Wert wurde im Spender gemessen. Hier lag der Median bei der Gruppe Hohlfasersystem bei 7,3 (range 7,0 - 7,4) und für die Gruppe Zentrifuge bei 7,3 (range 7,3 - 7,4). Im Vergleich zum Spender kam es im Vollblutbeutel und im Beutel des EK zu einem Abfall des pH-Wertes. Die pH-Werte im Vollblutbeutel und im EK-Beutel waren vergleichbar und zeigten bei beiden Systemen einen Median von pH 7. Im Vergleich zum Spender lagen die Mediane des pH-Wertes im Vollblutbeutel und im EK-Beutel unterhalb des Referenzbereichs von pH 7,31 – 7,41.

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des pH-Wertes vom EK - und Vollblutbeutel ließ sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,49$) zwischen den Systemen detektieren (Abbildung 56).

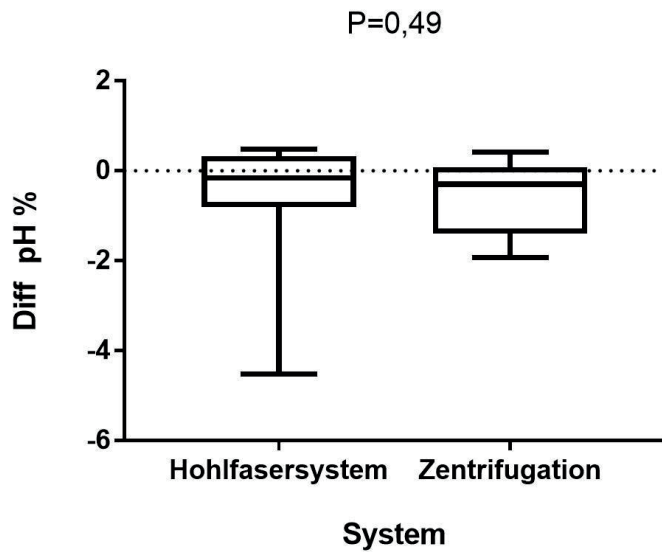


Abbildung 56: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des pH-Wertes zwischen den Systemen

Diff = Differenz

pO₂

Auch für den pO₂ ergaben sich nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse keine signifikanten Einflüsse der verwendeten Systeme (p=0,82), ebenso wenig wie für die Interaktion der Haupteffekte (p=0,15). Für den Entnahmeort konnte ein signifikanter Einfluss (p<0,0001) auf den pO₂ Gehalt detektiert werden (Abbildung 57).

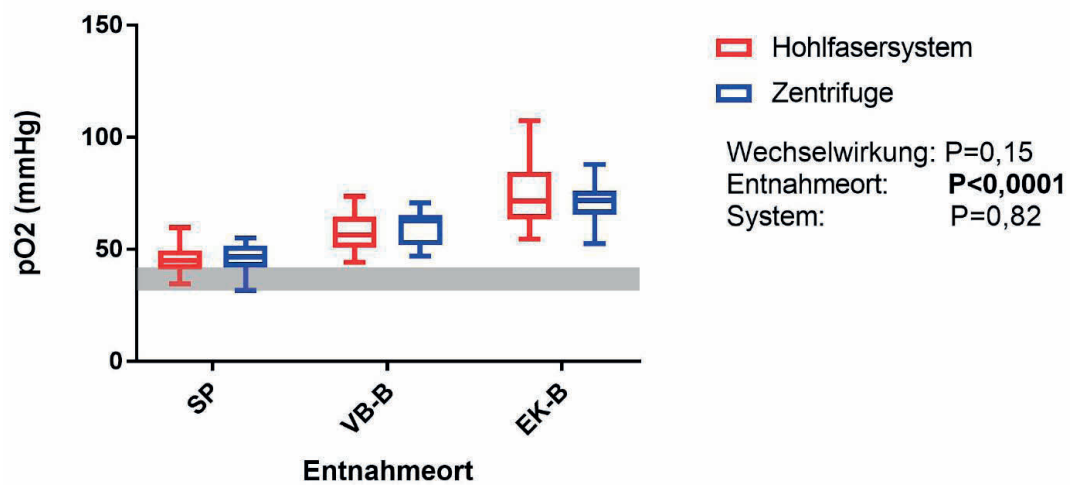


Abbildung 57: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pO_2 an den unterschiedlichen Entnahmeorten

pO_2 = Sauerstoffpartialdruck, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Im Spender war der pO_2 im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten am geringsten. Im Vollblutbeutel konnte ein Anstieg in der pO_2 -Konzentration verzeichnet werden. Für die Gruppe Hohlfasersystem betrug der Median hier 56,4 mmHg (range 44,2 - 73,5 mmHg) und für die Gruppe Zentrifuge 62,7 mmHg (range 46,9 - 70,6 mmHg). Die höchsten Gehalte für den pO_2 zeigten sich im EK-Beutel. Hierbei lag der Median für die Gruppe Hohlfasersystem bei 72,2 mmHg (range 54,6 - 107,4 mmHg) und für die Gruppe Zentrifuge bei 71,7 mmHg (range 52,6 - 87,8 mmHg).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des pO_2 vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich kein signifikanter Unterschied ($p=0,06$) zwischen den Systemen (Abbildung 58).

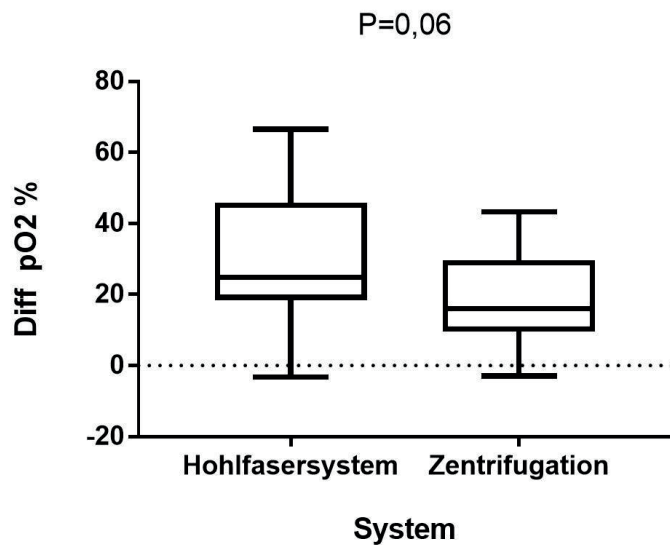


Abbildung 58: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des pO_2 zwischen den Systemen

Diff = Differenz, pO_2 = Sauerstoffpartialdruck

pCO_2

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,90$) auf die pCO_2 -Konzentration ausübten. Auch für die Interaktion der Haupeffekte ($p=0,09$) war keine Signifikanz zu verzeichnen. Der Entnahmeort zeigte signifikante Auswirkungen auf die pCO_2 -Konzentration (Abbildung 59).

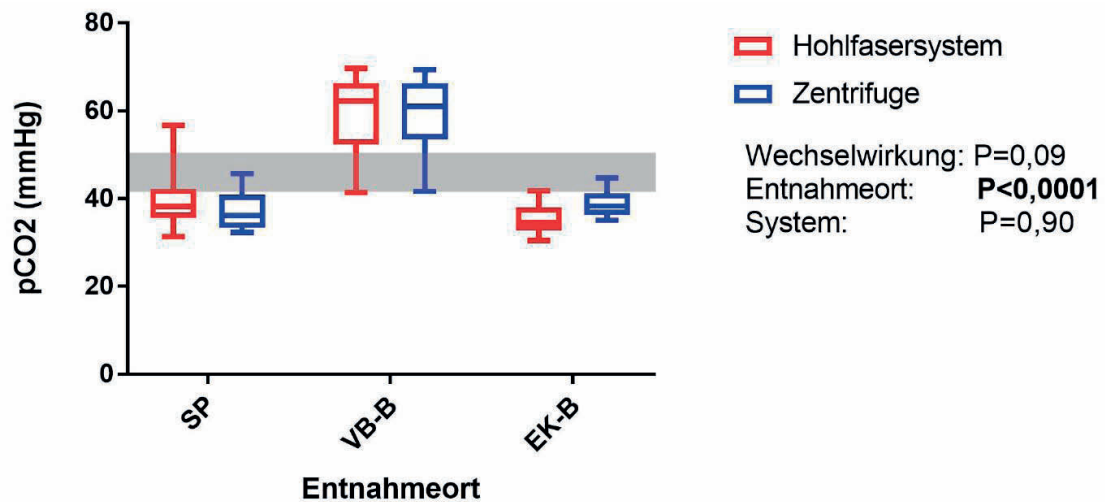


Abbildung 59: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pCO₂ an den unterschiedlichen Entnahmeorten

pCO₂ = Kohlenstoffdioxid Partialdruck, Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel. Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Wie aus der Abbildung 59 ersichtlich, wurde der pCO₂ in Abhängigkeit vom Spender, Vollblut- und EK-Beutel signifikant beeinflusst (p<0,0001). Im Vergleich zu den Ausgangswerten im Spender war im Vollblutbeutel ein Anstieg in der pCO₂-Konzentration zu verzeichnen. Im Vollblutbeutel lag der Median des pCO₂ der Gruppe Hohlfasersystem bei 62,2 mmHg (range 41,1 - 69,6 mmHg) und für die Gruppe Zentrifuge bei 60,5 mmHg (range 41,6 - 69,4 mmHg). Im Vergleich zum Vollblutbeutel kam es im EK-Beutel zu einem Abfall in der pCO₂-Konzentration. Hierbei lag der Median der Gruppe Hohlfasersystem bei 34,4 mmHg (range 30,4 - 41,8 mmHg) und für die Gruppe Zentrifuge bei 38,3 mmHg (range 35,1 - 44,6 mmHg).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz des pCO₂ vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied (p=0,02) zwischen den Systemen, welcher mittels *Mann-Whitney-U-Test* detektiert wurde. Für die Gruppe Hohlfasersystem ließ sich eine Reduktion des pCO₂ von 41 % nachweisen und für die Gruppe Zentrifugation 35,5 % (Abbildung 60).

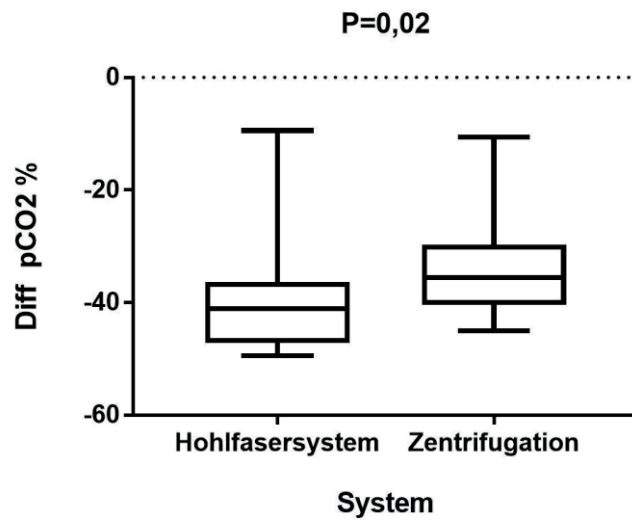


Abbildung 60: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des $p\text{CO}_2$ zwischen den Systemen

Diff = Differenz, $p\text{CO}_2$ = Kohlenstoffdioxid Partialdruck

Glukose

Nach Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse zeigten sich keine signifikanten Einflüsse der Systeme ($p=0,33$) auf die Glukose Konzentration. Gleiches ließ sich ebenfalls für die Interaktion der Haupeffekte ($p=0,06$) feststellen. Für den Entnahmeort ($p<0,0001$) wurde ein signifikanter Einfluss auf die Konzentration der Glukose nachgewiesen (Abbildung 61).

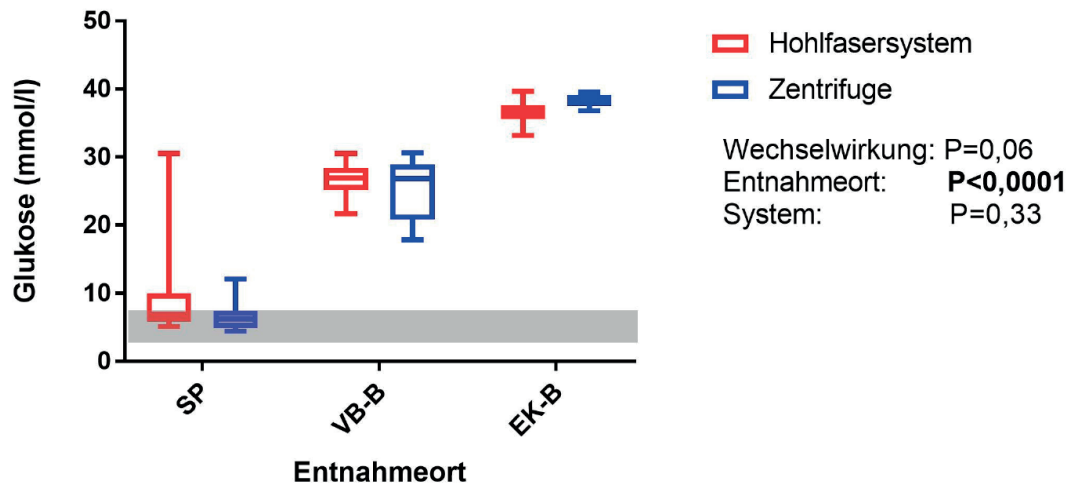


Abbildung 61: Vergleich der Systeme in Bezug auf die Glukose an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel
 Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Wie die Abbildung 61 zeigt war die Glukose Konzentration des Spenders im Vergleich zum Vollblutbeutel und dem EK-Beutel am geringsten. Im Spender lag der Median der Glukose der Gruppe Hohlfasersystem bei 6,9 mmol/l (range 5,1 - 30,5 mmol/l) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 6,2 mmol/l (range 4,4 - 12,1 mmol/l). Im Vollblutbeutel war eine Zunahme der Glukose Konzentration zu verzeichnen. Der Median der Gruppe Hohlfasersystem lag bei 26,9 mmol/l (range 21,7 - 30,5 mmol/l) und bei der Gruppe Zentrifuge bei 26,8 mmol/l (range 17,8 - 30,6 mmol/l). Im EK-Beutel ließen sich die höchsten Glukose Konzentrationen messen. Für die Gruppe Hohlfasersystem lag der Median bei 35,8 mmol/l (range 33,2 - 39,7 mmol/l) und für die Gruppe Zentrifuge bei 38,7 mmol/l (range 36,8 - 39,5 mmol/l).

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der Glukose vom EK - und Vollblutbeutel war kein signifikanter Unterschied ($p=0,06$) zwischen den Systemen nachweisbar (Abbildung 62).

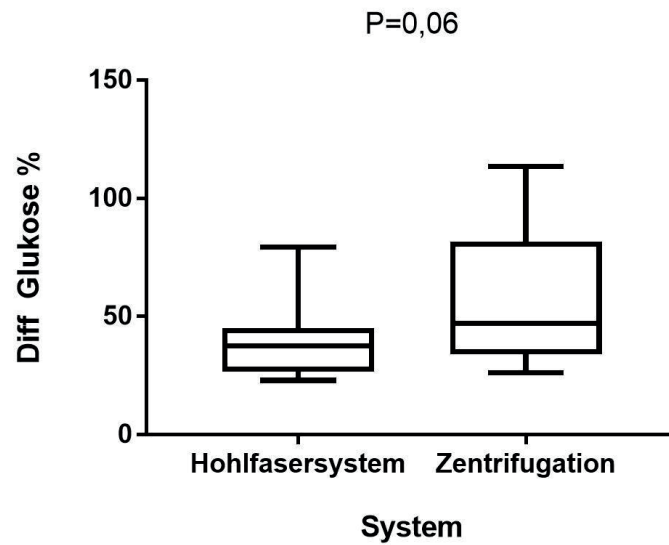


Abbildung 62: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der Glukose zwischen den Systemen

Diff = Differenz

Laktat

Die statistische Auswertung der 2-faktoriellen Varianzanalyse ergab, dass die Systeme keinen signifikanten Einfluss ($p=0,90$) auf die Laktat Konzentration ausübten. Für die Laktat Konzentration konnte eine signifikante Interaktion ($p=0,0006$) zwischen dem Entnahmeort und dem System beobachtet werden. Eine Signifikanz hinsichtlich des Entnahmeortes war nicht zu verzeichnen (Abbildung 63).

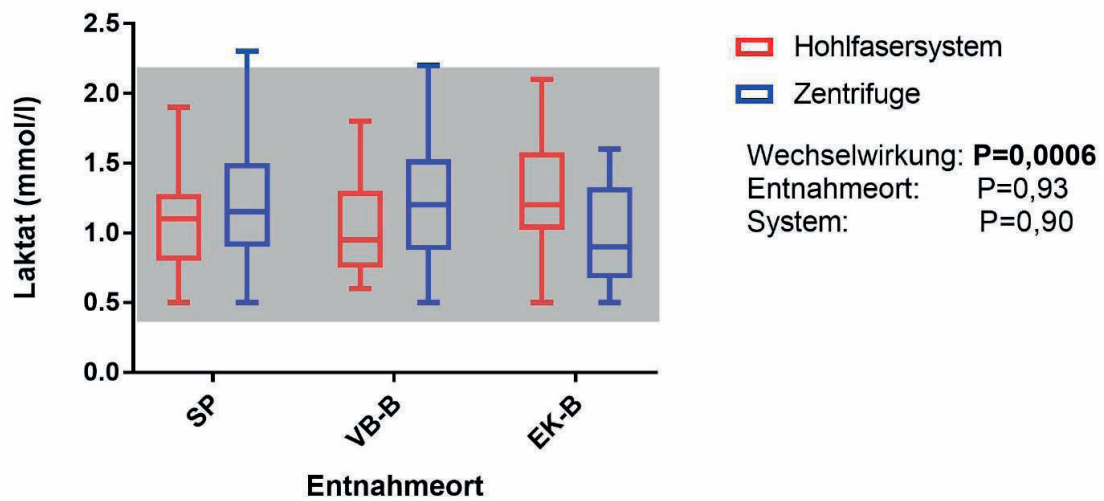


Abbildung 63: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Laktat an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Entnahmeorte: SP = Spender, VB-B = Vollblutbeutel, EK-B = Erythrozytenkonzentrat Beutel

Das Referenzintervall ist als grauer Balken hinterlegt.

Die Ausgangswerte des Spenders zeigten sowohl bei der Gruppen Hohlfasersystem, als auch bei der Gruppe Zentrifuge einen Median von 1,1 mmol/l an. Im Vergleich zum Vollblutbeutel sank der Median für Laktat bei der Gruppe Hohlfasersystem auf 0,95 mmol/l (range 0,6 - 1,8 mmol/l) ab. Für die Gruppe Zentrifuge konnte im Vollblutbeutel ein ähnlicher Median beobachtet werden, wie im Spender. Im Vergleich zum EK-Beutel konnte für die Gruppe Zentrifuge ein Abfall des Medians festgestellt werden. Dieser lag bei 0,9 mmol/l (range 0,5 - 1,6 mmol/l). Für die Gruppe Hohlfasersystem zeigte sich ein Anstieg des Medians 1,2 mmol/l (range 0,5 - 2,1mmol/l) im EK-Beutel im Vergleich zum Vollblutbeutel.

Beim Vergleich der prozentualen Differenz der Laktat Konzentration vom EK - und Vollblutbeutel ergab sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,0012$) zwischen den Systemen, welcher mittels *Mann-Whitney-U-Tests* detektiert wurde. Die Gruppe Hohlfasersystem zeigte eine höhere Laktat Konzentration (16,1 %) im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation (Abbildung 64).

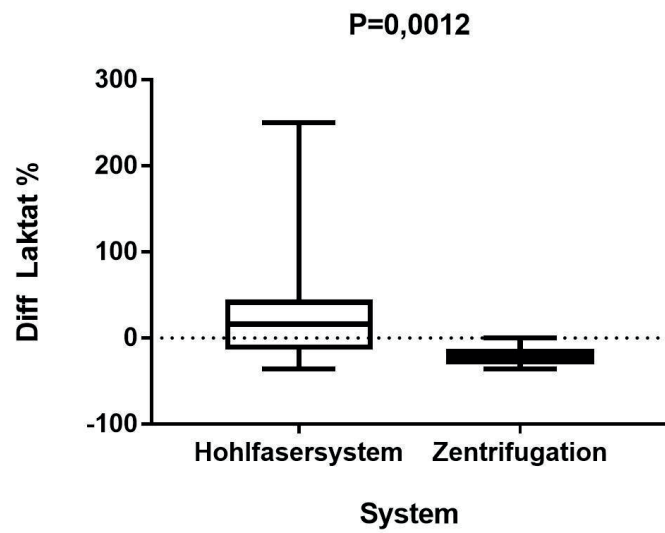


Abbildung 64: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der Laktat Konzentration zwischen den Systemen

Diff = Differenz

Vergleich des Volumens der Blutprodukte sowie der Separationsdauer

Zwischen den unterschiedlichen Systemen konnten weder signifikante Unterschiede hinsichtlich der gewonnenen Volumina im Vollblut-, Plasma- und EK- Beutel festgestellt werden (Abbildung 65), noch in der Separationsdauer (Abbildung 66). Bei der spezifischen Berechnung des Volumens welches nach der Separation im System verbleibt, konnte für die Gruppe Hohlfasersystem ein Median von 8,5 ml festgestellt werden und für die Gruppe Zentrifuge ein Median von 18 ml (graphisch nicht dargestellt). Der Median der Separationsdauer betrug beim Hohlfasersystem 0,5 h und bei der Gruppe Zentrifuge 1 h. Die Maximalwerte bezüglich der Separationsdauer lagen bei der Gruppe Hohlfasersystem bei 2,5 h und machte bei der Gruppe Zentrifuge 2,1 h aus.

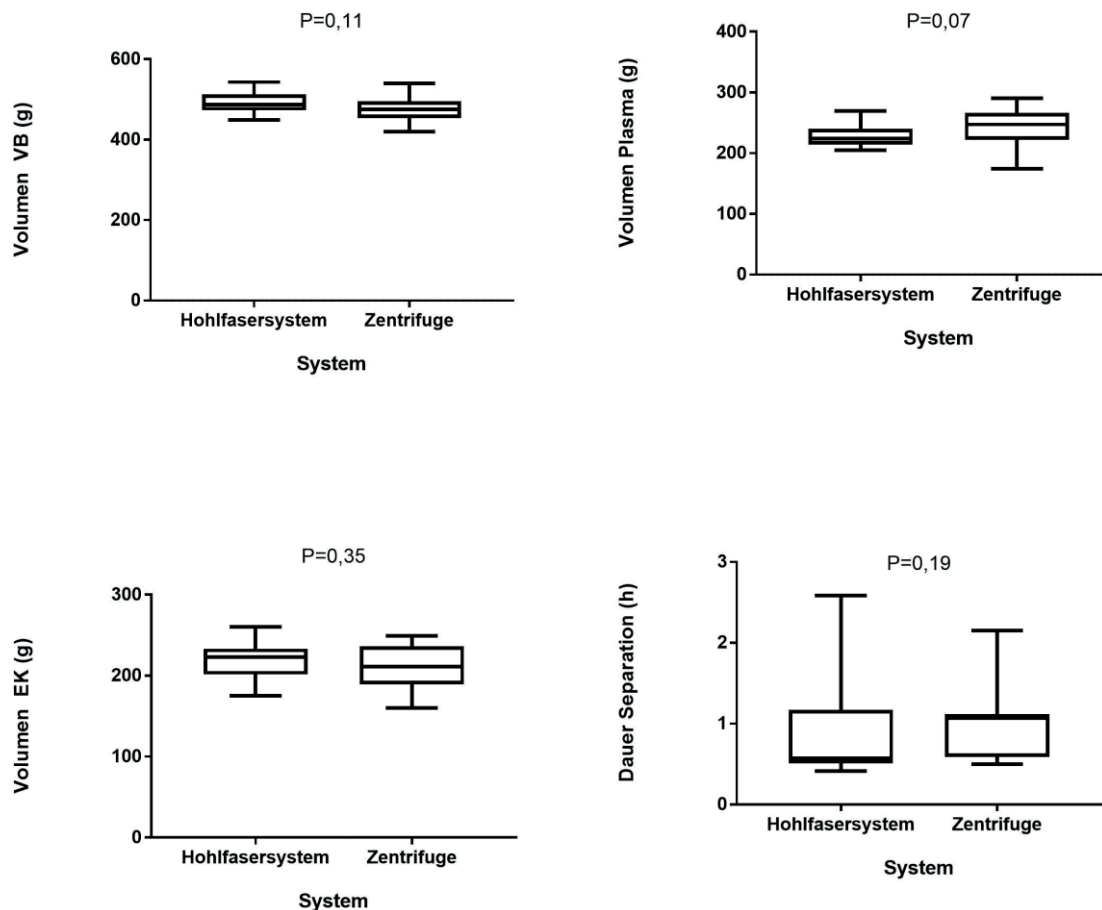


Abbildung 65: Darstellung des Volumens vom Vollblut -, Plasma -, und EK - Beutel im Gruppenvergleich

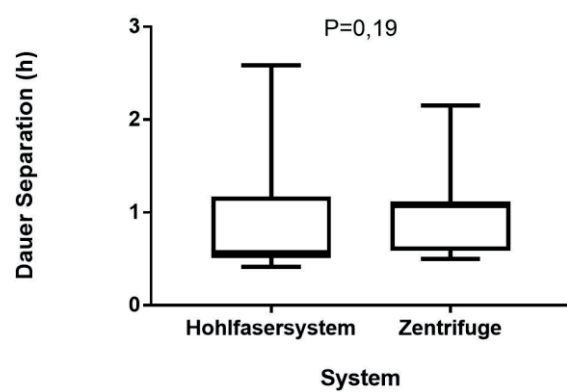


Abbildung 66: Darstellung der Separationsdauer im Gruppenvergleich

Diskussion

In der Humanmedizin wurden mehrfach Studien publiziert, welche die Qualität, Stabilität und Sicherheit von Blutprodukten untersuchen, die mithilfe eines Hohlfasersystems hergestellt wurden (Sekiguchi *et al.* 1990, Schwarzfischer *et al.* 1992, Hannemann-Pohl 2005, Hornsey *et al.* 2005, Bohoněk 2009, Brune *et al.* 2009, Johnson *et al.* 2015, Hackstein *et al.* 2017). Für die Veterinärmedizin liegen nach dem Wissen der Autorin keine Studien vor, die den Einsatz von Hohlfasersystemen speziell für die Spezies Hund beleuchten. Daher wird im Rahmen der Diskussion unter anderem Bezug auf humanmedizinische Studien genommen.

Anhand der erhobenen Daten dieser Studie wird im Folgenden die Qualität der Blutprodukte die mithilfe des Hohlfasersystems, beziehungsweise der Methode Zentrifugation hergestellt wurden eingehend diskutiert. Zur Beurteilung der Qualität wird vorwiegend auf die „Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich“ des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit eingegangen (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2011), da in der Veterinärmedizin bislang keine weiteren offiziellen Standards für die Qualität und Sicherheit von Blutzubereitungen zur Verfügung stehen.

Parameter der Gerinnung

Gerinnungszeiten aPTT und PT

Der Grund der signifikanten Verlängerung der aPTT und PT im Plasmabeutel der Gruppe Hohlfasersystem ist sehr wahrscheinlich auf die verringerten Konzentrationen an FV, FVIII und insbesondere auf das verringerte Fibrinogen zurückzuführen. In der Studie von Johnson *et al.* zeigte sich für das Plasma der Gruppe Hohlfasersystem ebenfalls eine Verlängerung der aPTT und PT im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation. Johnson *et al.* begründen dies ebenfalls mit der Verringerung in der Konzentration an FVIII, FV und des Fibrinogens (Johnson *et al.* 2015). Im Unterschied dazu lagen in der Studie von Sekiguchi *et al.* die

Gerinnungszeiten (aPTT und PT) des Plasmas, welches unter Verwendung eines Hohlfaserfilters hergestellt wurde im Normbereich (Sekiguchi *et al.* 1990). Eine Ursache hierfür könnte am Material des Hohlfilters liegen. Sekiguchi *et al.* verwendeten in ihrer Studie einen Hohlfaserfilter aus Polyethylen, wohingegen in der vorliegenden Studie ein Filter aus Polyethersulfon zu Einsatz kam, welcher scheinbar selektiv einige Gerinnungsfaktoren absorbiert.

Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Verlängerung der PT und aPTT aufgrund der oben genannten Verringerung bestimmter Gerinnungsfaktoren zurückzuführen ist und die Ursache nicht in der Lagerung des Plasmas bei Raumtemperatur zu begründen ist. Trotz der Lagerung des Plasmas bei Raumtemperatur zeigte sich keine Verlängerung der PT und aPTT. Dies konnte ebenfalls durch andere Wissenschaftler bestätigt werden. Während der Lagerung des Plasmas für sechs Stunden bei Raumtemperatur zeigte sich in einer Studie ebenfalls keine Veränderungen der PT. Ebenso ergab die Lagerung des Plasmas für 48 h stabile Werte bei der Messung der partiellen Thromboplastinzeit, wenn das Plasma nach der Blutentnahme sofort separiert wurde (Smalko *et al.* 1985). Die Stabilität der PT und aPTT während der Lagerung bei Raumtemperatur über zwei Tage lang konnte in der Studie von Furlanello *et al.* demonstriert werden (Furlanello *et al.* 2006).

Der Ausreißer der aPTT (32,8 sec.) eines Spenders innerhalb der Gruppe Zentrifuge ist sehr wahrscheinlich auf einen analytischen Messfehler zurückzuführen, da die aPTT in den darauffolgenden Messungen aus dem Vollblutbeutel keine Abweichungen mehr zeigte.

Einfluss der Materialoberfläche von Hohlfaserfiltern auf Gerinnungsparameter

Unter der Verwendung des Hohlfasersystems zeigte sich im Plasmabeutel im Vergleich zum Vollblutbeutel eine Abnahme der Fibrinogen Konzentration von 48,3 %. Die Fibrinogen Konzentration war signifikant niedriger, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge (2,4 %). Die Problematik bezüglich des Fibrinogens unter Verwendung von Hohlfasersystemen zeigte sich bereits in mehreren Studien (Hornsey *et al.* 2005, Johnson *et al.* 2015). Hornsey *et al.* bestätigten ebenfalls eine Abnahme in der Fibrinogen Konzentration im Plasmabeutel,

jedoch sei die Ursache der Reduktion unklar. Eine selektive Zurückhaltung des Fibrinogens durch die 0,5 µm große Pore des Hohlfasersystems sei unwahrscheinlich (Hornsey *et al.*, 2005).

Die Verwendung eines Hohlfasersystems kann in Bezug auf die Plasmagewinnung ebenfalls einen nachteiligen Effekt auf die Konzentration des Gerinnungsfaktors V mit sich bringen. Wie in dieser Studie gezeigt werden konnte, ließ sich unter Verwendung des Hohlfasersystems eine signifikante Verringerung der Faktor V Konzentration im Plasmabeutel, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge nachweisen. Unter Verwendung des Hohlfasersystems lag die FV Konzentration des Plasmabeutels in dieser durchgeführten Studie bei 105 %. Die Konzentration an FV erfüllte die für die Humanmedizin geltende Vorgabe von mindestens 70 % (European Committee on Blood Transfusion 2015). Die beschriebenen Ergebnisse aus anderen Studien belegen ebenfalls eine Verringerung der FV Konzentration unter Verwendung eines Hohlfasersystems (Johnson *et al.* 2015, Hackstein *et al.* 2017). In der humanmedizinischen Studie von Hackstein *et al.* bei der ebenfalls das 3M Blutseparationssystem der vorliegenden Studie verwendet wurde, zeigte sich im Plasmabeutel eine FV Aktivität von 47 % und erfüllte damit nicht die geforderten Qualitätsansprüche (Hackstein *et al.* 2017). Es liegt die Vermutung nahe, dass speziesspezifische Unterschiede dazu führen, dass der Faktor V unterschiedlich stark mit dem Material des Hohlfasersystems interagiert. Der Einsatz eines Hohlfasersystems scheint jedoch nicht zwangsläufig zur einer Verringerung der FV Konzentration im Plasma zu führen. Schwarzfischer *et al.* konnten keine Veränderungen für den FV detektieren, obwohl ebenfalls ein Hohlfasersystem zum Einsatz kam. Neben den oben beschriebenen Veränderungen zeigten diverse Studien zudem einen Abfall in der FVIII Konzentration im Plasma unter der Verwendung eines Hohlfasersystems (Hornsey *et al.* 2005, Brune *et al.* 2009, Bohoněk 2009, Johnson *et al.* 2015, Hackstein *et al.* 2017). In der Studie von Hackstein *et al.* zeigt sich für den Plasmabeutel eine FVIII Aktivität von 90 % (Hackstein *et al.* 2017), welches mit den Ergebnissen unserer Studie vergleichbar ist. In der vorliegenden Studie zeigte sich im Plasmabeutel eine Verringerung der FVIII Konzentration unter der

Verwendung des Hohlfasersystems. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass ein Abfall der FVIII Konzentration ebenfalls bei der Gruppe Zentrifuge nachweisbar war.

Im Hinblick auf das AT III zeigt sich in der vorliegenden Studie eine Reduktion im Plasma der Gruppe Hohlfasersystem. Brune et al. konnten ebenfalls eine Abnahme der AT III Aktivität im Plasmabeutel nachweisen (Brune *et al.* 2009). Im Unterschied hierzu ließen sich in der Studie von Schwarzfischer et al. keine Veränderungen bezüglich des AT III nach der Filtration feststellen (Schwarzfischer *et al.* 1992).

Hinsichtlich des vWF-Antigens zeigten Brune et al. in ihrer Studie ebenfalls eine verringerte Konzentration an vWF-Antigen im Plasmabeutel im Vergleich zum Ausgangswert (Brune *et al.*, 2009). In der vorliegenden Studie ließ sich bei einem Spender eine erhöhte Konzentration des vWF-Antigens im Plasmabeutel feststellen, was vermutlich durch einen analytischen Messfehler zu begründen. Die genaue Ursache im Anstieg des vWF-Antigens konnte für diesen speziellen Fall nicht evaluiert werden.

Die höhere Konzentration des vWF- Antigens des Entnahmeortes "Spender" ist im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten mit geringerer vWF-Antigen Konzentration damit zu erklären, dass es dort nicht zur einer Verdünnung mit dem Antikoagulant kam, wie es bei den anderen Entnahmeorten der Fall war.

Bei der zusammenfassenden Betrachtung der erzielten Ergebnisse dieser Studie scheint die Ursache für die Reduktion diverser Gerinnungsfaktoren im Zusammenhang mit dem Hohlfaserfilter zu stehen. Die Materialoberfläche des Filters könnte eine Rolle spielen, denn eine Interaktion von Gerinnungsfaktoren mit der Materialoberfläche ist denkbar.

Möglicherweise absorbiert der Filter während der Passage des Blutes einen Teil der Gerinnungsfaktoren wie beispielsweise das Fibrinogen, sodass sich das Fibrinogen innerhalb des Filters anreichert und im Plasmabeutel eine geringere Fibrinogen Konzentration nachweisbar ist.

Desweiteren scheinen die verschiedenen Materialien der Hohlfaserfilter einen unterschiedlichen Einfluss auf Gerinnungsfaktoren auszuüben. Vermutlich interagieren die verwendeten Materialien unterschiedlich stark mit den Gerinnungsfaktoren, was eine

Erklärung für die unterschiedlich erzielten Ergebnisse der verschiedenen Studien erklären könnte.

Hackstein et al. wiesen in Versuchen nach, dass die Reduktion von FV maßgeblich durch den Hohlfilter verursacht wird (Hackstein *et al.* 2017). Im Gegensatz dazu, zeigten sich in der Studie von Schwarzfischer et al. keine Reduktionen des FV und AT III im Plasmabeutel (Schwarzfischer et al., 1992). Schwarzfischer et al. verwendeten einen Hohlfilter aus Polyäthylen, wohingegen in der vorliegenden Studie und derer von Brune et al. ein Hohlfilter aus Polyethersulfon zum Einsatz kam.

Hinsichtlich der klinischen Bedeutung der Reduktion diverser Gerinnungsparameter kann anhand der Ergebnisse dieser vorliegenden Studie keine Aussage getroffen werden. Es sind hierfür weitere Studien nötig, um die klinische Bedeutung näher evaluieren zu können.

Einfluss des Leukozytenepletionsfilters auf Gerinnungsparameter

Im Gegensatz zum Hohlfilter scheint der Leukozytendepletionsfilter hingegen keinen maßgeblichen Einfluss auf das Fibrinogen zu nehmen, da die Fibrinogen Konzentrationen der Gruppe Zentrifugation im Vollblutbeutel und anschließend im Plasmabeutel vergleichbar waren. In Bereich der Humanmedizin untersuchten Runkel et al. den Effekt unterschiedlicher Leukozytendepletionsfilter auf das Fibrinogen und konnten ebenfalls keinen Effekt des Filters auf das Fibrinogen zeigen (Runkel *et al.* 2005).

In der Studie von Schwarzfischer et al. zeigte sich im Vergleich zur vorliegenden Studie keine Veränderung bezüglich des FV im Plasmabeutel. Neben den bereits oben beschriebenen Möglichkeiten einer FV Reduktion könnte die eine weitere Ursache hinsichtlich unterschiedlicher Studienergebnisse mit dem Studienaufbau zu erklären sein. Bei der Betrachtung des Versuchsaufbaus von Schwarzfischer et al. ergab sich, dass in der Studie kein Leukozytendepletionsfilter verwendet wurde (Schwarzfischer et al. 1992). Da sich in der vorliegenden Studie sowohl die FV Konzentration vom Vollblutbeutel zum Plasmabeutel der Gruppe Hohlfilter, als der Gruppe Zentrifuge verringerte, könnte der Leukozytendepletionsfilter hier ebenfalls eine Rolle spielen. Möglicherweise bindet der

Leukozytendepletionsfilter den FV an sich. Ein nachteiliger Einfluss von Leukozytendepletionsfiltern auf die Gerinnungsfaktoren FV und FVIII konnte in humanmedizinischen Studien bereits demonstriert werden. Die Reduktion der Faktoren V und VIII könnte auf eine mögliche Aktivierung der Gerinnungskaskade beziehungsweise auf eine Bindung der Faktoren an die Oberfläche des Leukozytendepletionsfilters zurückzuführen sein, jedoch scheint die klinische Relevanz unbedeutend zu sein (Cardigan *et al.* 2001). In einer anderen Studie untersuchte Heiden *et al.* den Einfluss der Leukozytendepletion des Vollblutes auf die Plasmaqualität. Es kamen vier verschiedene Leukozytendepletionsfilter aus Polyester zum Einsatz und ein Leukozytendepletionsfilter bestand aus Polyurethane. Es konnte (wie auch in anderen Studien) kein nachteiliger Effekt der Leukozytendepletionsfilter auf die Gerinnungsfaktoren (FVIII und FV) nachgewiesen werden (Riggert *et al.* 1997, Rapaille *et al.* 1997, Heiden *et al.* 2004, Runkel *et al.* 2005, Aboul Enein *et al.* 2016).

Im Rahmen der vorliegenden Studie zeigte sich sowohl bei der Gruppe Hohlfasersystem, als auch bei der Gruppe Zentrifuge eine ca. 13 %ige Abnahme des FVIII vom Vollblutbeutel hin zum Plasmabeutel. Wie bereits oben erwähnt, sind nachteilige Einflüsse von Leukozytendepletionsfiltern auf den Gerinnungsfaktor FVIII bekannt (Cardigan *et al.*, 2001), sodass die Abnahme des FVIII durch den Leukozytendepletionsfilter zu erklären ist. In der Studie von Schwarzfischer *et al.* konnte keine Veränderung in der Aktivität der Gerinnungsfaktoren durch die Filtration mittels Hohlfasersystem hinsichtlich des FVIII festgestellt werden (Schwarzfischer *et al.*, 1992). Es ist jedoch zu bedenken, dass in dieser Studie auch kein Leukozytendepletionsfilter verwendet wurde.

Einen weiteren Einfluss auf die Interaktion zwischen Leukozytendepletionsfiltern und Gerinnungsfaktoren scheint die Temperatur des Blutes beim passieren des Filters zu spielen. Williamson *et al.* konnten eine Abnahme der FVIII Konzentration nach der Leukozytendepletion feststellen, wenn das Vollblut vorher bei Raumtemperatur gelagert wurde (Williamson *et al.* 1999). Runkel *et al.* lagerten Vollblut über zwei Stunden bei Raumtemperatur und führten anschließend eine Leukozytendepletion mit einem positiv geladenen Polyesterfilter durch sowie mit einem ungeladenen Polyesterfilter. Es zeigte sich

hierbei jedoch kein Einfluss der Leukozytendepletion auf die Gerinnungsparameter FV, FVIII und Fibrinogen (Runkel *et al.* 2005).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Verringerung des FVIII klinisch gesehen wahrscheinlich wenig relevant ist, da für das Plasma sowohl für die Gruppe Hohlfasersystem als auch die Gruppe Zentrifugation eine Aktivität des Faktors VIII von über 85 % vorliegt. Für die Humanmedizin ist eine Aktivität des FVIII von 70 % für 75 % der Plasmaeinheiten festgesetzt (Johnson *et al.* 2015). In der vorliegenden Studie wird diese Vorgabe erfüllt.

Einfluss der Raumtemperatur auf Gerinnungsparameter

Bei der Überprüfung des Lagerungseinflusses der Raumtemperatur auf die Fibrinogen Konzentration zeigte sich eine Signifikanz im Unterschied zwischen den Systemen Hohlfasersystem und Zentrifuge. Dies ist jedoch weniger bedeutsam, da die Fibrinogen Konzentrationen der Gruppe Hohlfasersystem rein zufällig höhere Ausgangswerte im Spender zeigten. Die unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen der beiden Gruppen sind für den signifikanten Unterschied verantwortlich, welcher nicht auftreten würde, wenn beide Gruppen von Beginn an gleiche Fibrinogen Konzentrationen hätten. Andere Wissenschaftler untersuchen ebenfalls den Effekt der Lagerung bei Raumtemperatur auf das Fibrinogen. Furlanello *et al.* bewiesen, dass die Stabilität des Fibrinogens während einer Lagerung bei Raumtemperatur erst nach 48 h abnimmt (Furlanello *et al.* 2006). Die Lagerung bei Raumtemperatur scheint einen geringeren nachteiligen Einfluss auf das Fibrinogen zu haben, im Vergleich beispielsweise zur einer Lagerung im Kühlschrank. Mehrere Wissenschaftler zeigten bei der Lagerung des Plasmas im Kühlschrank über einen Zeitraum von 24 h einen signifikanten Abfall der Fibrinogen Konzentration (Piccione *et al.* 2010, Grochowsky *et al.* 2014).

In der vorliegenden Studie zeigte sich kein nachteiliger Einfluss der Lagerung von Plasma bei Raumtemperatur, obwohl es sich bei dem Faktor FV um einen labilen Faktor handelt

(Grochowsky et al. 2014). Die Stabilität des FV während einer Lagerung von zwei Tagen bei Raumtemperatur konnte von Furlanello et al. bestätigt werden (Furlanello et al. 2006).

Die Ergebnisse der Studie zeigen im Plasmabeutel bei beiden Versuchsgruppen eine Verringerung der FVIII Konzentration. Die Tatsache, dass es sich bei FVIII um einen labilen Faktor handelt (Grochowsky et al. 2014) lässt die Vermutung zu, dass die Lagerung bei Raumtemperatur einen Einfluss auf diesen Gerinnungsfaktor haben könnte. In der vorliegenden Studie waren die FVIII Konzentration aus dem Vollblutbeutel und die Messung des FVIII nach der Lagerung bei Raumtemperatur jedoch vergleichbar. Ebenso zeigten Johnson et al., dass eine Lagerung des Vollblutes bei Raumtemperatur über eine Nacht hinweg keine Verringerung des Faktors VIII in der Kontrollgruppe Zentrifugation mit sich brachte (Johnson et al. 2015). Der FVIII war ebenfalls in anderen Studien stabil, selbst während einer Lagerung bei Raumtemperatur für 48 Stunden (Mansell und Parry 1991, Furlanello et al. 2006). Dies lässt darauf schließen, dass die Dauer bis zur Verarbeitung des Vollblutes einen geringeren Einfluss auf den Faktor VIII hat als zunächst angenommen, obwohl es sich bei FVIII um einen labilen Faktor handelt. Die Ursache der verminderten FVIII Konzentration scheint im Zusammenhang mit der Verarbeitungsart des Blutproduktes zu liegen und hängt weniger von der Zeitdauer ab, bis das Vollblut separiert wurde.

Für das vWF-Antigen konnten bezüglich der Lagerung bei Raumtemperatur keine entscheidenden Veränderungen festgestellt werden. Johnstone et al. zeigten in ihrer Studie, dass das vWF-Antigen während einer Lagerung bei Raumtemperatur über 24 h stabil bleibt (Johnstone et al. 1991). Die erhöhte Konzentration des vWF-Antigens eines Spenders vom Plasma, welches bei Raumtemperatur gelagert wurde, ist vermutlich durch einen analytischen Messfehler zu begründen. Die genaue Ursache im Anstieg des vWF-Antigens konnte für diesen speziellen Fall nicht evaluiert werden.

Die Lagerung des Plasmas bei Raumtemperatur zeigte keinen nachteiligen Effekt auf das AT III. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von Furlanello et al. Die Stabilität des AT bei einer zweitägigen Lagerung bei Raumtemperatur zeigte sich auch dort als stabil (Furlanello et al. 2006).

Proteine

TTP

Die Verringerung in der TTP Konzentration von den Ausgangswerten des Spenders hin zum Vollblutbeutel ist durch den verdünnenden Effekt des Antikoagulanzen zu erklären. Die prozentuale Differenz der TTP Konzentration zwischen dem Vollblutbeutel und dem Plasmabeutel zeigte signifikante Unterschiede zwischen dem Hohlfasersystem und der Zentrifuge, denn möglicherweise interagiert das TTP mit der Oberfläche des Hohlfilterfilters und wird von diesem teilweise absorbiert. In der Studie von Johnson *et al.* zeigte sich für das Plasma bei der Gruppe Hohlfasersystem ebenfalls eine signifikante Verringerung in der TTP Konzentration im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation (Johnson *et al.* 2015). Unter der Verwendung eines Hohlfasersystems konnten weitere Wissenschaftler eine Verringerung der Proteinkonzentration im Plasmabeutel im Vergleich zu den Ausgangswerten feststellen (Hannemann-Pohl 2005, Brune *et al.* 2009). Die genaue Ursache für das verringerte TTP der vorliegenden Studie konnte nicht ermittelt werden. Es liegt jedoch nahe, dass es zur einer Wechselwirkung der Kapillarmembran mit dem TTP kommen könnte.

Schwarzfischer *et al.* konnten lediglich einen leichten Abfall der TTP Konzentration vom Spender hin zum Plasmabeutel feststellen, jedoch liegt hier die Erklärung der Differenz zwischen dem Spender und Blutprodukt in der Verdünnung mit dem Stabilisator nahe, da der Unterschied in der TTP Konzentration nur gering war (Schwarzfischer *et al.* 1992). In der Studie von Sekiguchi *et al.* konnte unter Verwendung eines Hohlfilterfilters das TTP zu nahezu 100 % im Plasma zurückgewonnen werden. Die Hohlfilterfasern des verwendeten Systems bestanden aus hydrophilem Polyethylen (Sekiguchi *et al.* 1990). Vermutlich scheint auch hier das Material des Hohlfilterfilters eine Rolle zu spielen, da im Gegensatz zu Schwarzfischer *et al.* und Sekiguchi *et al.* in der vorliegenden Studie sowie bei Brune *et al.* der Hohlfilter aus Polyethersulfon bestand und dies für die Reduktion des TTP im Plasma verantwortlich sein könnte (Sekiguchi *et al.* 1990, Schwarzfischer *et al.* 1992).

Aufgrund der Tatsache, dass sich der Großteil des Totalproteins im Plasmabeutel befand, zeigte sich in dieser Studie für den Beutel des Erythrozytenkonzentrates bei beiden Systemen die zu erwartende Reduktion des Totalproteins. Das Ausmaß der Signifikanz

hinsichtlich der verwendeten Systeme fällt für den EK-Beutel geringer aus, im Vergleich zum Plasmabeutel. Die Ursache liegt vermutlich in der oben beschriebenen Problematik des Hohlfasersystems.

Albumin (g/l)

Die Verringerung in der Albumin Konzentration von den Ausgangswerten des Spenders hin zum Vollblutbeutel ist (wie auch beim TTP) durch den verdünnenden Effekt des Antikoagulanz zu erklären. Im Plasmabeutel zeigten sich für die Gruppe Hohlfasersystem geringere Albumingehalte im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Die Wahrscheinlichkeit liegt nahe, dass das Albumin wieder mit dem Hohlfaserfilter interagiert. In der Studie von Sekiguchi et al. konnte unter Verwendung eines Hohlfaserfilters das Albumin zu nahezu 100 % im Plasma zurückgewonnen werden (Sekiguchi *et al.* 1990).

Im EK zeigten sich bei beiden Systemen deutlich verminderte Konzentrationen an Albumin im Vergleich zum Vollblut, oder Plasmabeutel. Dies ist darauf zurückzuführen, da sich der Großteil des Albumins wie es zu erwarten war, im Plasmabeutel befand. Eine Signifikanz hinsichtlich der verwendeten Systeme zeigte sich für den EK-Beutel, ebenso wie für den Plasmabeutel, die jedoch mit der oben beschriebenen Problematik des Hohlfaserfilters zu erklären ist.

Elektrophorese

Die relative Albumin Konzentration war im Spender am höchsten. Dies könnte damit zu erklären sein, dass es sich bei der Probe vom Spender um eine Serumprobe handelte, wohingegen bei den anderen Entnahmeorten Citratplasma vom Spender, Vollblut- beziehungsweise Plasmabeutel verwendet wurde. Aufgrund des verdünnenden Effektes sind im Vergleich zur Serumprobe in diesen Proben niedrigere relative Albumin Konzentrationen denkbar. Eine andere Erklärung könnte sein, dass sich neben den Veränderungen der Albumin Konzentration auch die α_1 – Globuline an den

unterschiedlichen Entnahmeorten signifikant änderten und eine prozentuale Verschiebung eines Proteins prozentuale Veränderungen in den anderen Proteinfractionen mit sich führt. Dies könnte eine Erklärung hierfür sein, weshalb sich die prozentuale Albumin Konzentration vom Spender im Vergleich zu den anderen Entnahmeorten verringerte und die prozentuale Konzentration an $\alpha 1$ – Globulinen im Vergleich anstieg.

Wie oben kurz erwähnt veränderte sich die prozentuale Konzentration an $\alpha 1$ – Globulinen signifikant an den unterschiedlichen Entnahmeorten, was damit zu erklären ist, dass im Elektropherogramm ein prozentualer Anstieg in der Konzentration eines Proteins zum Abfall in der Konzentration der anderen Proteine führt. Da sich sowohl die Konzentration des Albumins, als auch die der $\alpha 1$ – Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten änderten, sich jedoch kein signifikanter Effekt des Systems noch eine signifikante Wechselwirkung des Entnahmeortes und des Systems zeigten, liegt die oben beschriebene Begründung für diese Beobachtung nahe. Für die $\alpha 2$ –, $\beta 1$ – und γ – Globuline konnten keine signifikanten Effekte festgestellt werden.

Im Serum des Spenders zeigten sich die niedrigsten Gehalte an $\beta 2$ – Globulinen, wohingegen in den Proben des Citratplasmas vom Spender, Vollblut- und Plasmabeutel eine höhere Konzentration in den $\beta 2$ – Globulinen festgestellt werden konnte. Dies ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass sich in den Proben mit dem Citratplasma noch das Fibrinogen befand, welches in der Serumprobe fehlte. Es konnte in mehreren Studien demonstriert werden, dass das Fibrinogen die klare Trennung der β – und γ – Region erschwert, da sich das Fibrinogen dazwischen lagert. Auf diese Weise kann es zur einer Überschätzung der β – Globulinfraktion kommen (Rossi *et al.* 2008, Errico *et al.* 2012). Auf der anderen Seite konnten Wissenschaftler wie Martínez-Subiela *et al.* nach der Durchführung der Kapillarzonenoelektrophorese keinen Peak im Elektropherogramm zwischen der β – und γ – Region nachweisen (Martínez-Subiela *et al.* 2002).

Der signifikante Effekt der Wechselwirkung zwischen dem Entnahmeort und dem System auf die Konzentration der $\beta 2$ – Globuline lässt sich folgendermaßen erklären. Obwohl die Gruppe Hohlfasersystem initial im Unterschied zur Gruppe Zentrifuge höhere

Konzentrationen an $\beta 2$ – Globulinen aufwies, zeigten sich beispielsweise für die entnommenen Proben aus dem Plasmabeutel geringere Konzentrationen an $\beta 2$ – Globulinen unter Verwendung des Hohlfasersystems. Die Gruppe Zentrifugation wies höhere $\beta 2$ – Globuline auf was damit zu erklären ist, dass im Plasmabeutel auch erhöhte Konzentrationen an Fibrinogen vorhanden waren, im Unterschied zur Gruppe Hohlfasersystem bei welcher sich im Plasmabeutel ein Abfall in der Fibrinogen Konzentration zeigte. Aufgrund der verminderten Konzentration des Fibrinogens im Plasmabeutel steht weniger Fibrinogen zur Verfügung, welches sich zwischen die β – und γ – Region bei der Elektrophorese lagern könnte und die $\beta 2$ – Globulinfraktion somit weniger beeinflusst.

Unter der Betrachtung des spezifischen Effektes der Plasmagewinnung auf die prozentuale Konzentration von Albumin und Globulinen zeigten sich keine signifikanten Verluste der oben genannten Parameter zwischen dem Vollblut- und Plasmabeutel. Im Vergleich zu anderen Studien, welche ebenfalls den Einfluss der Separationsart auf die Proteinfractionen untersuchten, konnten ebenfalls keine großen Veränderungen in der Proteinzusammensetzung festgestellt werden. Der Wissenschaftler Hannemann-Pohl konnte unter Einsatz eines Hohlfasersystems eine nahezu unauffällige Verteilung mit nur geringgradigen Veränderungen in der Eiweißzusammensetzung des Plasmas feststellen. Für das Plasma zeigte sich eine Verdünnung der Proteine im Vergleich zu den Ausgangswerten des Spenders (Hannemann-Pohl 2005). Im Unterschied zur vorliegenden Studie wurde in der Studie von Hannemann-Pohl das Fibrinogen jedoch zusammen mit der Fraktion der γ – Globulinen erfasst (Hannemann-Pohl 2005) und nicht wie in der vorliegenden Studie vermutet, zusammen mit der Fraktion der $\beta 2$ – Globuline. Wie bereits oben erwähnt, konnte für die Spezies Hund bereits demonstriert werden, dass sich das Fibrinogen im Bereich der $\beta 2$ – Globuline darstellt (Errico *et al.* 2012).

In der Studie von Brune *et al.* zeigte sich im Plasmabeutel eine physiologische Verteilung der Proteinfraction (Brune *et al.* 2009). Sekiguchi *et al.* demonstrierten, dass unter der Verwendung eines Hohlfilterfilters die Globuline zu nahezu 100 % im Plasma zurückgewonnen werden konnten (Sekiguchi *et al.* 1990). Zusammenfassend lässt sich für

die Proteinzusammensetzung festhalten, dass die Ergebnisse der vorliegenden Studie mit den Ergebnissen aus vorherigen Studien vergleichbar sind und die Separationsart zu keinen wesentlichen Veränderungen in der Proteinzusammensetzung führt.

Zelluläre Parameter

Die Verringerung in der RBC Konzentration sowie des Hkt und Hb - Gehaltes von den Ausgangswerten des Spenders hin zum Vollblutbeutel ist durch den verdünnenden Effekt des Antikoagulanzen zu erklären. Dies ist mit den Ergebnissen aus anderen Studien vergleichbar (Schwarzfischer *et al.* 1992, Brune *et al.* 2009). Wie gewünscht waren bei beiden Systemen keine Erythrozyten im Plasmabeutel nachweisbar, woraus folglich auch der Hkt und der Hb - Gehalt gegen Null ging. Im Beutel des Erythrozytenkonzentrates zeigte sich eine Aufkonzentrierung der Erythrozyten aufgrund der Tatsache, dass das Plasma fehlte. Die Gruppe Zentrifuge zeigte eine signifikant stärkere Aufkonzentrierung der RBC im Vergleich zur Gruppe Hohlfasersystem und folglich ebenfalls einen höheren Hkt und Hb – Gehalt. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Gruppe Zentrifuge im Vergleich zur Gruppe Hohlfasersystem initial höhere Ausgangswerte der RBC, Hkt und Hb – Gehaltes aufwies, was im EK später zu einer Signifikanz im Unterschied der Systeme beitragen könnte. Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass die Höhe des Hkt auch durch den Gehalt an Restplasma im EK beeinflusst wird (Ergül Ekiz *et al.* 2012). Die Gruppe Zentrifuge zeigte ein geringeres Volumen im EK und höhere Volumina im Plasmabeutel im Vergleich zur Gruppe Hohlfasersystem, jedoch waren die Unterschiede nicht signifikant. Nichtsdestotrotz könnten der höhere Gehalt an Restplasma im EK bei der Gruppe Hohlfasersystem zusammen mit den zusätzlich oben aufgeführten Ereignissen den signifikanten Unterschied der Systeme im Hinblick auf den EK-Beutel erklären. Der erzielte Hkt und Hb – Gehalt im EK erfüllte sowohl bei der Gruppe Hohlfasersystem, als auch der Gruppe Zentrifuge die Qualitätsanforderungen gemäß den Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verarbeitung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2011) und entsprach des Weiteren den

europäischen Anforderungen für Blutprodukte im Bereich der Humanmedizin (European Committee on Blood Transfusion 2015). Im Vergleich zur humanmedizinischen Studie, in derer das 3M Blutseparationssystem zum Einsatz kam, konnten die Qualitätsanforderungen für das EK ebenfalls erfüllt werden (Hackstein *et al.* 2017).

Bezüglich des Hb – Gehaltes zeigte sich in einer weiteren wissenschaftlichen Veröffentlichung beim EK ebenfalls eine Aufkonzentrierung des Hb – Gehaltes im Vergleich zum Ausgangswert des Spenders (Hannemann-Pohl 2005). In der Studie von Johnson *et al.* zeigte sich im Unterschied zur vorliegenden Studie unter der Verwendung eines Hohlfasersystems höhere Hb – Gehalte im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass unter Verwendung des Hohlfasersystems die Leukozytendepletion vor der Separation in Plasma und EK mittels eines Leukozytendepletionsfilters erfolgte und bei der Gruppe Zentrifugation die Entfernung des *Buffy Coat* erst nach der Zentrifugation erfolgte und hierbei ein Teil der Erythrozyten mit dem *Buffy Coat* verloren ging (Johnson *et al.* 2015). Aufgrund der Tatsache, dass im Plasmabeutel kein freies Hb nachweisbar war lässt sich schlussfolgern, dass es bei beiden verwendeten Systemen zur keiner Hämolyse kam. Dies ist mit Erkenntnissen aus der Studie von Brune *et al.* deckungsgleich, innerhalb derer ebenfalls ein Hohlfasersystem zur Blutkomponentenherstellung verwendet wurde und kein freies Hämoglobin im Plasmabeutel zu detektieren war (Brune *et al.* 2009).

Im Vergleich zu den Ausgangswerten des Spenders mit denen des Vollblutbeutels zeigte sich eine Erhöhung des MCV. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass sich im Vollblutbeutel zusätzlich noch die CPD - Lösung befand, welches einen Einfluss auf das MCV haben könnte. Im EK war das MCV am höchsten. Dies ist vermutlich auf den Effekt des SAG -M zurückzuführen, weil dies einen osmotischen bedingten Einfluss auf die Erythrozyten zu haben scheint. Bereits in früheren Studien wurde vermutet, dass eine Veränderung des MCV auf den osmotischen Einfluss der Additivlösung zurückzuführen sein könnte (Mudge *et al.* 2004, Ergül Ekiz *et al.* 2012, Bala *et al.* 2016). Eine Erklärung für die Abnahme des MCV im Plasmabeutel im Vergleich zum EK-Beutel ist, dass sich im EK zusätzlich noch das SAG-M befand, welches im Plasmabeutel fehlte und daher zu einem

geringeren MCV führte. Bei einem Spender zeigte sich im Plasmabeutel ein MCV von 0 fL, was damit zu erklären ist, dass keine Erythrozyten im Plasmabeutel vorhanden waren.

Das MCHC zeigte im Unterschied zu den Entnahmeorten (bei denen Erythrozyten vorhanden waren), im Plasmabeutel wie zu erwarten einen Wert von 0 mmol/l, mit Ausnahme des MCHC Wertes eines Spenders der Gruppe Hohlfasersystem. Hier lag der MCHC bei 78,67 mmol/l. Dies ist damit zu erklären, dass Plasma dieses Spenders lipämisch war. Messfehler im Labor können auf eine lipämische Probe zurückzuführen sein (Nikolac 2014). Es ist bekannt, dass im präanalytischen bzw. analytischen Stadium der zu untersuchenden Proben diverse Faktoren das Ergebnis des Testes beeinflussen können. Innerhalb einer Probe stellen störend wirkende Substanzen einen der häufigsten Ursachen dar, welche die Genauigkeit und Fehlerfreiheit der Testergebnisse beeinflussten (Hosseini *et al.* 2014). Aufgrund der Tatsache, dass Lipoproteine Licht absorbieren können sie auf diese Weise das Testergebnis beeinflussen. Vor allen Dingen bei Tests welche auf spektrophotometrischen Messprinzipien beruhen, beeinflussen Lipoproteine innerhalb der Probe das Testresultat (Nikolac 2014). Falsch hohe MCHC Werte können durch eine Hypertriglyceridämie, bzw. eine Hyperlipidämie verursacht werden (Hosseini *et al.* 2014). Der CHCM wird im Unterschied zum MCHC nicht durch eine Lipämie beeinflusst (Siemens Healthcare GmbH 2008). Für den CHCM zeigten sich keine Signifikanzen für den Entnahmeort, das System, oder für eine Interaktion. Im Plasmabeutel zeigten sich bei zwei Spendern ein Wert des CHCM von 0 mmol/l was damit zu erklären ist, dass in diesen Fällen keine Erythrozyten im Plasmabeutel vorhanden waren.

WBC und PLT

Die Verringerung der WBC - und PLT - Konzentration von den Ausgangswerten des Spenders hin zum Vollblutbeutel erklärt sich durch den verdünnenden Effekt des Antikoagulanz. Es zeigte sich, dass der Leukozytendepletionsfilter der vorliegenden Studie die Leukozyten und Thrombozyten sehr gut aus dem Vollblut herausfiltert. Dieses Ergebnis ist mit

Leukozytendepletionsfiltern aus anderen Studien vergleichbar (Lacerda *et al.* 2014, Notomi *et al.* 2016).

Der Beutel mit dem EK zeigte in der vorliegenden Studie eine starke Reduktion der WBC und PLT, welches mit Ergebnissen aus anderen Studien vergleichbar ist (Hannemann-Pohl 2005, Brune *et al.* 2009, Hackstein *et al.* 2017). Bei der Betrachtung der prozentualen Differenz zwischen dem Vollblutbeutel und dem EK zeigten sich in der vorliegenden Studie signifikant niedrigere PLT - und WBC - Konzentrationen bei der Gruppe Hohlfasersystem im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Aufgrund der Tatsache, dass bei beiden Systemen der gleiche Leukozytendepletionsfilter verwendet wurde, ist diese Signifikanz vermutlich auf die zufällig höheren Ausgangswerte einzelner Spender bei der Gruppe Zentrifuge zurückzuführen. Der Leukozytendepletionsfilter konnte in diesem Fall nicht alle Zellen vollständig zurückhalten, sodass einige Zellen mit in das EK geschwemmt wurden. Im Unterschied hierzu zeigten sich in der Studie von Johnson *et al.* für das Hohlfasersystem signifikant höhere Konzentrationen an Leukozyten im EK im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation. Es ist jedoch kritisch anzumerken, dass dieser Unterschied wahrscheinlich mit dem unterschiedlichen Studiendesign der beiden Versuchsgruppen zu begründen ist. Beim Hohlfasersystem durchlief das Vollblut den Leukozytenfilter und im Anschluss daran den Hohlfaserfilter, um das Blut in EK und Plasma aufzutrennen. Bei der Gruppe Zentrifugation wurde das Vollblut hingegen erst zentrifugiert, der *Buffy coat* entfernt, das EK gewonnen und durchlief danach den Filter. Des Weiteren wurden verschiedene Leukozytendepletionsfilter unterschiedlicher Firmen verwendet (Johnson *et al.* 2015).

In Bezug auf den Restgehalt an WBC und PLT erfüllte das Plasma in der vorliegenden Studie die Anforderungen gemäß den Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verarbeitung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich. Hiernach darf der Restleukozytengehalt im Plasma $< 1 \times 10^9/\text{l}$ betragen und der Restthrombozytengehalt $< 30 \times 10^9/\text{L}$ sein (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2011). Bei der Verwendung von Hohlfasersystemen in anderen Studien zeigten sich vergleichbare Ergebnisse bezüglich des Gehaltes an Leukozyten und Thrombozyten im Plasma. In der Studie von Hornsey *et al.* waren die Gehalte an Thrombozyten und Leukozyten im

Plasmabeutel so gering, dass sie für die Messung nicht zu detektieren waren (Hornsey *et al.* 2005). Gleiches konnte für den Leukozytengehalt im Plasmabeutel von weiteren Wissenschaftlern bestätigt werden (Brune *et al.* 2009).

Weitere Parameter

In der vorliegenden Studie zeigten sich für beide Separationsarten keine Hämolyseanzeichen in Form eines Anstiegs der Kaliumkonzentration. Die Kaliumkonzentration verringerte sich vom Spender über den Vollblutbeutel bis zum EK kontinuierlich. Eine Reduktion des Kaliumgehaltes im EK im Vergleich zu den Ausgangswerten konnten in vorherigen Studien ebenfalls bestätigt werden (Hannemann-Pohl 2005, Brune *et al.* 2009) und deckt sich mit den Erkenntnissen dieser Studie. Die Ursache im Abfall der Kaliumkonzentration lässt sich folgendermaßen erklären. Durch die Zugabe des Konservierungsmittels CPD befindet sich im Vollblutbeutel mehr Phosphat, welches Auswirkungen auf ein wichtiges Enzym der Glykolyse hat. Das Phosphat ist dazu in der Lage, über die Zellmembran in die Zelle einzudringen. Es führt zur Aktivierung der Phosphofruktokinase (Besselink *et al.* 2003). Dieses Enzym katalysiert die Umwandlung von Fructose – 6 – Phosphat zu Fructose – 1,6 – bisphosphat, wodurch die Glykolyse weiter voranschreitet und als Folge dessen ATP generiert wird (Rapoport, Tom, A. *et al.* 1976, Harvey 2012). Eine weitere Komponente der CPD stellt die Dextrose dar, die als Metabolit für die Glykolyse verwendet wird. Im Rahmen der Glykolyse wird ATP generiert, welches eine enorme Bedeutung für die Erythrozyten mit sich bringt (Willer und Riedesel 1985). Durch die Zugabe der CPD steht den Erythrozyten mehr ATP zur Verfügung, sodass die Natrium – Kalium – Pumpe ordnungsgemäß funktioniert. In Studien in denen die Lagerungsfähigkeit der Erythrozyten untersucht wurde, zeigte sich nochmals die Wichtigkeit des ATP Gehaltes für die Funktionsfähigkeit der Natrium – Kalium – Pumpe. Durch die Abnahme des ATP Gehaltes während der Lagerung kam es zum Anstieg der extrazellulären Kaliumkonzentration, weil das Enzym unter anderem wegen des ATP Abfalls

funktionsunfähig wurde und sich Kalium Ionen aufgrund dessen extrazellulär anreicherten (Hess 2010, Blasi *et al.* 2012, Ergül Ekiz *et al.* 2012).

Durch die Zugabe des SAG-M zeigte sich im EK - Beutel ein weiterer Abfall in der Kaliumkonzentration, weil die Additivlösung einen zusätzlichen Einfluss auf die Erythrozyten ausübt. Das enthaltene Adenin ist dazu in der Lage in die Erythrozyten einzudringen und es wirkt sich positiv auf den ATP - Gehalt der Zellen aus (Wardrop *et al.* 1994, vKurup *et al.* 2003). Durch die Zugabe von Glukose wird eine weitere Energiequelle für die Zellen zur Verfügung gestellt (Sparrow *et al.* 2014). Als Resultat der verbesserten ATP Versorgung der Erythrozyten ist es denkbar, dass die Natrium – Kalium – Pumpe ihre Funktion noch besser ausüben kann und es als Resultat dessen zu einem weiteren Abfall in der Kaliumkonzentration des EK kommt.

Im Hinblick auf den LDH Gehalt ließen sich bei der Verwendung beider Systeme keine signifikanten Unterschiede feststellen. In der Studie von Hannemann-Pohl konnten beim Einsatz eines Hohlfaserfilters ebenfalls kein Hämolyse Anzeichen im EK in Form einer LDH Erhöhung nachgewiesen werden (Hannemann-Pohl 2005).

Für die Gruppe Zentrifuge zeigten sich in der vorliegenden Studie bei einem Spender erhöhte LDH Werte im Vollblut - als auch im EK-Beutel, was darauf hindeutet, dass in diesem Einzelfall es zur einer Zerstörung der Zellen kam. Eine Schädigung der Zelle führt zur Freisetzung der LDH, sodass sich das Enzym im Überstand anreichert. Aufgrund dieser Tatsache stellt die LDH ein Marker für eine Zellschädigung dar (Marconato *et al.* 2009, Chaudhary und Katharia, 2012). Die Ursachen für eine Zellschädigung sind vielfältig. Mögliche denkbare Ursachen hierfür können ungünstige Faktoren während der Blutabnahme sein, oder ein unsanfter Transport des Vollblutbeutel. Auch im Rahmen der Zentrifugation könnte es zu einer Zerstörung von Zellen kommen, wenn die Kraft welche auf die Zellen ausgeübt wird, zu groß ist.

Der Anstieg des Phosphatgehaltes (P) im Vollblutbeutel ist durch den Zusatz der Konservierungslösung CPD zu erklären. Es dient dazu das Laktat ab zu puffern, welches während des erythrozytären Stoffwechsels gebildet wird (Lucas *et al.* 2004) und hat eine

Bedeutung für die Aufrechterhaltung einer physiologischen Sauerstoffbindungskurve (Willer und Riedesel 1985). Aufgrund der Tatsache, dass das Phosphat in der Lage ist über die Zellmembran in die Zelle einzudringen (Besselink *et al.* 2003), werden im Beutel des EK geringere P Konzentrationen gemessen, da sich das P nicht mehr im Überstand befindet, sondern bereits in den Erythrozyten.

Glukose und Laktat

Der Anstieg der Glukose Konzentration im Vollblutbeutel ist auf den Zusatz der CPD - Lösung zurückzuführen. Die Erhöhung in der Glukose Konzentration bei dem Ausgangswert eines Blutspenders resultiert aus der Kontamination der betreffenden Probe mit der CPD - Lösung, sodass hierfür eine erhöhte Glukose Konzentration gemessen werden konnte. Bei der Dextrose handelt es sich um ein Isomer der Glukose, welches dazu dient den Stoffwechsel der Erythrozyten zu fördern (Mudge *et al.* 2004). Der weitere Anstieg der Glukose Konzentration im EK - Beutel ist auf die Suspension der Erythrozyten in der Additivilösung SAG-M zurückzuführen, denn die Zugabe von Glukose stellt eine Energiequelle für die Zellen dar (Sparrow *et al.* 2014) und hat somit eine wichtige Bedeutung für die Blutkonservierung des EKs.

Im Hinblick auf die Laktat Konzentration zeigte sich für die Gruppe Hohlfasersystem vom Vollblutbeutel zum EK ein Anstieg des Laktatgehaltes. Im Unterschied hierzu zeigte die Gruppe Zentrifuge signifikant niedrigere Laktat Konzentration im Beutel des EKs. Eine Erklärung hierfür könnten Temperaturänderungen im Herstellungsprozess der Blutprodukte mit den unterschiedlichen Systemen liegen. Der Metabolismus der Zellen wird durch geringere Temperaturen gehemmt, da die Temperatur einen Einfluss auf biochemische Reaktionen hat (Scott *et al.* 2005). Ein höherer Anstieg in der Laktat Konzentration lässt somit auf eine höhere Glykolyserate schließen. Die Zentrifugation könnte für den Unterschied bezüglich des Metabolismus der Zellen verantwortlich sein. Während des Zentrifugationsvorganges wurde die Temperatur auf 20 °C eingestellt, wohingegen das Hohlfasersystem bei Raumtemperatur aufgehängt wurde und dort die

Temperaturbedingungen aufgrund der Jahreszeit innerhalb derer die Studie durchgeführt wurde vermutlich höher waren. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass der Stoffwechsel bei der Gruppe Zentrifuge langsamer vonstattenging, als bei der Gruppe Hohlfasersystem.

pH-Wert

Der physiologische pH-Wert des venösen Blutes des Hundes liegt bei pH 7,3 (Ilkiw *et al.* 1991). Der pH-Wert des Spenders zeigte im Vergleich zum Vollblutbeutel und dem Beutel mit dem EK die höchsten Werte. Lediglich bei einem Spender konnte beim Ausgangswert ein pH-Wert von 7,05 ermittelt werden. Hierbei ist jedoch anzumerken, dass es in diesem Fall zur einer Kontamination der Probe mit der CPD - Lösung kam und dies der Grund dafür ist, weshalb an dieser Stelle ein so geringer pH-Wert gemessen wurde. Der Abfall des pH-Wertes vom Spender hin zum Vollblutbeutel ist durch die CPD zu erklären. Dies konnte ebenfalls in anderen Studien bestätigt werden (Hess 2006, Hess 2010). Der Abfall des pH-Wertes ist wünschenswert. Durch einen geringen pH - Wert wird die Glykolyserate verlangsamt, was zu einem verringerten Metabolismus der Zellen führt (Hess 2006, Hess 2010). Dies ist insbesondere für die Lagerung des EKs von Bedeutung. Der Abfall des pH - Wertes ist somit zum Großteil durch die Zugabe des Antikoagulanzen zu erklären. Des Weiteren ist anzumerken, dass der Metabolismus der Zellen weiterhin stattfindet. Im Rahmen der Glykolyse kommt es zur Verstoffwechselung von Glukose und es entstehen die Endprodukte Laktat sowie Pyruvat. Diese Endprodukte werden im Anschluss daran aus der Zelle heraustransportiert und reichern sich im umgebenden Medium an, was zu einem Abfall des pH - Wertes führt (Mudge *et al.* 2004). Auch im Beutel des EKs blieb der pH - Wert im Vergleich zu den Ausgangswerten des Spenders niedrig, da sich im EK noch das SAG-M befand, welches in einem niedrigen pH -Wert resultiert. Ein Einfluss der Additivlösung auf den pH - Wert konnte von Hess *et al.* ebenfalls bestätigt werden (Hess 2006).

pO₂ und pCO₂

Der Abfall des pH - Wertes vom Spender hin zum Vollblutbeutel durch die oben genannten Faktoren hat ebenfalls Auswirkungen auf den pO₂ und somit auf die O₂ - Sättigung des Hämoglobins. Durch die Reduktion des pH - Wertes steigt der pO₂ im Vollblutbeutel an. Ein geringer pH – Wert resultiert in einer geringeren O₂ – Affinität des Hämoglobins (Storz und Moriyama 2008), ebenso wie ein Anstieg der CO₂ – Konzentration (Zheng *et al.* 2013), weshalb ein höherer pO₂ nötig ist um das Hb zu sättigen. Durch die Zugabe der CPD im Vollblutbeutel befand sich zudem eine höhere Konzentration an Phosphat im Vollblutbeutel. Es ist bekannt, dass ein Anstieg des Phosphates zur einer Rechtsverschiebung der O₂ -Bindungskurve führt (Morgan 1999) und die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins durch das Phosphat beeinflusst wird (Cambier *et al.* 2004).

Der weitere Anstieg des pO₂ im Beutel des EKs lässt sich damit erklären, dass sich die Erythrozyten nun in der SAG-M Lösung befanden und das Plasma fehlte. Im Plasma sind Proteine enthalten die eine Pufferfunktion ausüben (McGrotty und Knottenbelt 2002).

Der Anstieg des pCO₂ im Vollblutbeutel im Vergleich zu den Ausgangswerten des Spenders begründet sich mit dem Abfall des pH - Wertes im Vollblutbeutel. Es ist bekannt, dass ein geringer pH - Wert zu einem Anstieg des pCO₂ führt (Hess *et al.* 2002). Die Stabilisatorlösungen weisen einen niedrigen pH - Wert auf (Zander und Sümpelmann 2001). Durch das Herstellungsverfahren werden die Erythrozyten mehrfach mit H⁺- Ionen in Kontakt gebracht. Dies erfolgt durch den die Zugabe der CPD - und der SAG-M Lösung. Die Protonen reagieren mit dem HCO₃⁻ des Plasmas, sodass es zur Bildung von CO₂ und H₂O kommt. Die Folge ist ein Anstieg des pCO₂. Aufgrund der Tatsache, dass im EK das Plasma fehlt steht auch weniger HCO₃⁻ zur Verfügung (Zander und Sümpelmann 2001). Somit kann weniger CO₂ gebildet werden. Ein weiterer Grund für den Abfall des pCO₂ im EK im Vergleich zum Vollblutbeutel könnte mit dem Volumenunterschied zusammenhängen. Im Vollblutbeutel befand sich ein größeres Volumen, sodass für den Gasaustausch über die Wand des Beutels eine geringere Fläche zur Verfügung steht, im Vergleich zum EK. Dies könnte eine weitere Erklärung hierfür sein, weshalb der Vollblutbeutel einen höheren pCO₂ aufwies im Unterschied zum EK.

In der vorliegenden Studie zeigte sich für prozentuale Differenz des $p\text{CO}_2$ zwischen dem Vollblut - und EK- Beutel bei der Gruppe Hohlfasersystem ein signifikant geringerer $p\text{CO}_2$ im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Es ist zu diskutieren, ob beim Hohlfasersystem mehr Luftkontamination stattfand, als bei der Gruppe Zentrifuge. Das CO_2 ist ein Gas, welches leicht diffundiert. Es ist bekannt, dass der $p\text{CO}_2$ innerhalb einer Probe falsch negativ absinkt, wenn die Probe in Kontakt zu Raumluft kommt, weil das CO_2 heraus diffundiert (Rieser 2013). Unter der Berücksichtigung des Herstellungsverfahrens ist anzumerken, dass der Beutel des EKs beim Hohlfasersystem nach der Komponentenherstellung lediglich vom System abgeschraubt und sofort verschlossen wurde. Im Unterschied hierzu wurde der Beutel der Gruppe Zentrifuge nach der Zentrifugation geöffnet, um das Plasma entnehmen zu können. Im Anschluss daran wurde der Beutel mit den verbliebenen Erythrozyten an den SAG-M Beutel angeschlossen und die Erythrozyten in diesen überführt. Die Dauer der Unterbrechung des Systems war bei der Gruppe Zentrifuge größer. Die Zeitdauer der Unterbrechung des Systems scheint für den geringeren $p\text{CO}_2$ der Gruppe Hohlfasersystem somit nicht die Ursache zu sein. Eine weitere mögliche Erklärung könnte sein, dass sich im Hohlfasersystem initial mehr Luft befand, welche die Veränderung des $p\text{CO}_2$ erklären könnte. Der genaue Grund weshalb der $p\text{CO}_2$ bei der Gruppe Hohlfasersystem geringer war, als bei der Gruppe Zentrifuge konnte nicht näher evaluiert werden.

Separationsdauer

Im Hinblick auf die Separationsdauer ergaben sich zwischen den beiden verwendeten Systemen keine signifikanten Unterschiede. In der Studie von Johnson et al. zeigte sich für die Gruppe Hohlfasersystem eine signifikant längere Separationsdauer (140 min), im Vergleich zur herkömmlichen Zentrifugation (90 min) (Johnson et al. 2015). Der Unterschied weshalb in der Studie von Johnson et al. die Separation mittels Hohlfasersystem signifikant länger war, im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation und dies in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden konnte, liegt vermutlich an der unterschiedlichen Porengröße der verwendeten Hohlfaserfilter. In der Studie von Johnson et al. betrug die Porengröße des

Hohlfaserfilters 0,2 μm (Johnson et al. 2015), wohingegen der Hohlfaserfilter in der vorliegenden Studie eine Porengröße von 0,5 $\mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$ aufwies (3M Deutschland GmbH). In einer humanmedizinischen Studie in derer ebenfalls der Einfluss des 3MTM Blood Separationssystems auf die Blutproduktqualität untersucht wurde, betrug die durchschnittliche Separationszeit 64 Minuten (Hackstein et al. 2017). Die Ursache der unterschiedlichen Separationszeiten ist auf speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich der Blutviskosität zurückzuführen. Mehrere Studien konnten belegen, dass sich die rheologischen Eigenschaften zwischen den Spezies erheblich unterscheiden (Amin und Sirs 1985, Windberger et al. 2003). Die Viskosität des Blutes ist abhängig vom speziesspezifischen Hämatokrit, dem Aggregationsverhalten der Erythrozyten, der Flexibilität der Erythrozyten, der Plasmaviskosität sowie von der Konzentration an Fibrinogen und TTP (Windberger et al. 2003). Diese speziesspezifischen Unterschiede liefern eine Erklärung, weshalb sich die Separationszeiten der Blutproduktherstellung von Hund und Mensch unterscheiden.

Im Vergleich zur Dauer der Separation mit anderen Hohlfasersystemen konnte in der vorliegenden Studie eine geringere Separationszeit, mit Ausnahme der Studie von Schwarzfischer et al. festgestellt werden. Hornsey et al. gaben als Mittelwert für die Separationsdauer ihres Hohlfiltersystems 44 ± 7 Minuten an (Hornsey et al. 2005). Die Porengröße sowie der Hohlfaserdurchmesser des verwendeten Systems und des Hohlfasersystems dieser Studie waren identisch. Eine mögliche Ursache für die unterschiedlichen Separationszeiten könnte in der Anzahl der Hohlfasern liegen. In der Studie von Hannemann-Pohl betrug die Separationsdauer mittels Hohlfasersystem eine Stunde (Hannemann-Pohl 2005).

Die Dauer des Separationsvorgangs in der Studie von Schwarzfischer et al. betrug 15 Min (Schwarzfischer et al. 1992). Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass in dieser Studie das Blut keinen Leukozytendepletionsfilter passieren musste und zudem der Durchmesser der Hohlfasern größer war. Dies ist eine Erklärung dafür, weshalb die Separationsdauer deutlich geringer war, im Vergleich zur vorliegenden und anderen Studien (Hannemann-Pohl 2005, Hornsey et al. 2005).

Die maximale Separationszeit der Gruppe Hohlfasersystem betrug 2,5 Stunden, was jedoch damit zu erklären ist, dass es sich hierbei um eine der ersten Separationen mittels des Hohlfasersystems handelte und der Arbeitsablauf noch nicht so flüssig verlief, wie bei den folgenden Separationen. Dies gilt ebenso für die Gruppe Zentrifuge.

Volumen

In der vorliegenden Studie war das Volumen des EKs bei der Gruppe Hohlfasersystem geringgradig höher als bei der Gruppe Zentrifuge, jedoch war der Unterschied nicht signifikant. In der Studie von Johnson et al. zeigten sich für das EK der Gruppe Hohlfasersystem höhere Volumina im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation. Bei der Gruppe Hohlfasersystem kam es zur keiner Verminderung der Erythrozyten im Unterschied zur Gruppe Zentrifugation durch die Entfernung des *Buffy Coates* (Johnson et al. 2015). In der vorliegenden Studie zeigte sich bei der Gruppe Hohlfasersystem ein geringeres Volumen im Plasmabeutel im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge, jedoch konnte hierfür kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Im Gegensatz dazu, zeigte sich in der Studie von Johnson et al., dass das Volumen des gewonnenen Plasmas bei der Gruppe Hohlfasersystem signifikant geringer war im Vergleich zur Gruppe Zentrifugation (Johnson et al. 2015). Auf die zugrundeliegende Ursache, weshalb in der Studie von Johnson et al. das Plasmavolumen signifikant verringert war, wurde nicht näher eingegangen.

Im Rahmen der Studie zeigte sich, dass bei der Methode Hohlfasersystem weniger Blutbestandteile im System zurückblieben, im Vergleich zur Methode Zentrifugation. Dies ist sehr wahrscheinlich der Tatsache geschuldet, dass bei der Blutkomponentenherstellung mittels Zentrifugation ein zusätzlicher Beutel zum Einsatz kommt und es somit nicht vermieden werden kann, dass ein gewisser Rückstand im Beutel und in den Verbindungsschläuchen verbleibt.

Auswirkung der Hyperlipämie auf die Separation mittels Hohlfasersystem

Im Folgenden werden die zugrundeliegenden Ursachen näher diskutiert, die zum Ausschluss eines Spenders (Gruppe Hohlfasersystem) aus der statistischen Auswertung führten. Im Plasma des Spenders wurde eine hochgradige Lipämie festgestellt, was darauf schließen lässt, dass der Hund vor der Blutspende nicht ausreichend gefastet wurde. Die Fastenzeit vor der Blutabnahme sollte 12 h betragen (Nikolac 2014). Aufgrund der Anhäufung von Lipoproteinen kommt es zur Trübung innerhalb der Probe. Da die Chylomikronen die größten Lipoproteine darstellen, sind diese primär für die entstehende Trübung verantwortlich sind (Nikolac 2014). Bei Lipiden handelt es sich um Moleküle, welche wasserunlöslich sind und in dieser Form schlecht transportiert werden können. Aufgrund dieser Tatsache werden sie im Plasma in Form von Lipoproteinen transportiert. Wegen ihrer unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften, werden Lipoproteine in die sogenannten high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoproteins (LDL), very low-density lipoproteins (VLDL) und in Chylomikronen eingeteilt. Die größten Lipoproteine stellen die Chylomikronen dar, welche eine Größe von 75 - 1200 nm aufweisen. VLDL schließen sich mit einer Größe von 30 - 80 nm an, wohingegen LDL eine Größe von 18 - 25 nm aufweisen. HDL können in weitere Subklassen kategorisiert werden, die HDL von einer Größe von 5 bis zu 35 nm beinhalten (Xenoulis and Steiner 2010). Unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Größe der Lipoproteine und Chylomikronen sowie der Porengröße des Hohlfaserfilters (maximale Porengröße $0,5 \mu\text{m} \pm 0,1 \mu\text{m}$) (3M Deutschland GmbH) liegt die Vermutung nahe, dass es insbesondere durch die Anwesenheit von Chylomikronen zur einer Verstopfung der Poren des Hohlfaserfilters kam und somit ein Großteil des Plasmas mit in den Beutel des Erythrozytenkonzentrates geschwemmt wurde. Des Weiteren scheint ein Teil des Plasmas im Hohlfasersystem zu verbleiben. Somit ist es zu erklären, weshalb bei diesem Spender lediglich eine sehr geringe Plasma Ausbeute generiert werden konnte und der EK - Beutel ein deutlich höheres Volumen aufwies. Aufgrund dieser Tatsache ist es empfehlenswert den Blutspender über einen Zeitraum von 12 h im Vorfeld der Blutspende nüchtern zu lassen, da ansonsten eine adäquate Blutkomponentenherstellung mittels Hohlfasersystem nicht möglich ist. Nach

dem Wissen der Autorin wurde bei anderen publizierten Studien über die Herstellung von Blutkomponenten mittels Hohlfasersystem der vorliegende Fall des Versagens des Hohlfasersystems nicht beschrieben.

Vergleich der Separationssysteme

Die Vor – und Nachteile der beiden Separationsarten werden der übersichtshalber im Folgenden tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 3: Vergleich der Separationssysteme

3M™ Blood Separation System	
Vorteil	Nachteil
<ul style="list-style-type: none">- gute Qualität des EKs- Personalaufwand gering- platzsparend- einfache Handhabung- überall einsetzbar- keine Stromversorgung- keine zusätzliche Ausstattung nötig- keine Wartung	<ul style="list-style-type: none">- Plasmaqualität ist schlechter im Vergleich zur Methode Zentrifugation- der Spender sollte keine Hyperlipämie ausweisen, da das System ansonsten nicht funktioniert
Zentrifugation	
Vorteil	Nachteil
<ul style="list-style-type: none">- bessere Plasmaqualität- bessere Qualität des EKs- langfristig finanziell günstiger	<ul style="list-style-type: none">- Personalaufwand höher- höherer Platzbedarf- zusätzliche Ausstattung nötig (z.B. Plasmapresse)- Stromversorgung- Wartung

Unter finanziellen Gesichtspunkten stellt sich beim Überschlagen der Kosten beider Systeme folgendes Bild dar. Stehen pro Woche zwei Blutspender für die Herstellung von Blutkomponenten zur Verfügung, würde sich die Unterhaltung einer Zentrifuge unter rein finanziellen Gesichtspunkten nach ca. 8 Monaten im Einsatz rentieren. Demnach ist die Zentrifugation nach ca. 64 Separationen kostengünstiger, als das Hohlfasersystem.

Schlussfolgerung

Anhand der erhobenen Daten dieser Studie kann geschlussfolgert werden, dass die Qualität der Blutprodukte die mithilfe der Zentrifuge hergestellt wurden besser waren, im Vergleich zum Hohlfasersystem. Dies gilt insbesondere für die Plasmaqualität. Inwieweit die Reduktion einzelner Gerinnungsparameter trotz statistisch signifikanter Unterschiede eine klinische Bedeutung hinsichtlich des therapeutischen Einsatzes hat, ist in weiteren Studien näher zu evaluieren. Aufgrund der erhobenen Daten stellt der Einsatz des Hohlfasersystems jedoch durchaus eine Alternative dar, falls keine Zentrifuge zur Verfügung steht um Blutkomponenten herstellen zu können. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass der Blutspender keine Hyperlipidämie aufweisen sollte, da das Hohlfasersystem vom Vorliegen einer Hyperlipidämie nicht wie gewünscht funktioniert.

Zusammenfassung

Hintergrund

Der Einsatz von Blutprodukten gehört zu den lebensrettenden Maßnahmen in der Tiermedizin, jedoch stellt sich die Herstellung von Blutkomponenten aufgrund ihres technischen, aber auch personellen Aufwandes als aufwändig dar. Das Ziel dieser Studie war die Evaluierung der Qualität von Blutprodukten, die zum einen mit dem klassischen Verfahren der Vollblutzentrifugation und zum anderen mit einem neuartigen Hohlfasersystem, dem 3M™ Blood Separation System hergestellt wurden.

Studiendesign und Methoden

Für die Studie standen 32 klinisch gesunde Hunde im Studienzeitraum von Februar - Juni 2017 als Blutspender zur Verfügung, die randomisiert der Gruppe Zentrifuge (n=15) oder Hohlfasersystem (n=17) zugeteilt wurden. Ein Studienausschluss erfolgte, wenn die Blutbeutel nicht adäquat befüllt werden konnten, oder beim Vorliegen einer Hyperlipidämie. Die Proben für die Untersuchungen der einzelnen Parameter wurden an unterschiedlichen Orten entnommen (1) Spender venös, 2) Citratplasma des Spenders, 3) Vollblutbeutel (VB-Beutel), 4) Plasmabeutel, 5) Erythrozytenkonzentrat-Beutel (EK-Beutel), 6) Citratplasma des Vollblutbeutels nach Lagerung bei Raumtemperatur für die Dauer der Gewinnung der Blutprodukte). Die hämatologische Untersuchung der Proben erfolgte mit dem Hämatologiesystem ADVIA® 2120 (Siemens Healthcare GmbH). Mithilfe des Cobas b 221 Systems (Roche Diagnostics) wurden der pH – Wert, der pO₂, pCO₂ sowie der Glukose - und Laktatgehalt ermittelt. Der Probengehalt an Totalprotein, Albumin, Kalium, Phosphat und der LDH wurde mithilfe des ABX Pentra 400 (HORIBA ABX SAS) analysiert. Die einzelnen Gerinnungsparameter wie die PT, die aPTT, der Faktor V und VIII, das Fibrinogen sowie das AT III wurden unter Verwendung des STA Compact® (Diagnostica Stago S.A.S.) ermittelt. Das Fremdlabor LABOKLIN (LABOKLIN GmbH & Co. KG, Labor für klinische Diagnostik) führte die Analyse des vWF-Antigens in der Probe durch. Die Serumelektrophorese wurde durch das Fremdlabor der Firma BIOCONTROL in Ingelheim durchgeführt.

Ergebnisse

Das Plasma der Gruppe Hohlfasersystem zeigte signifikante Verlängerungen der Prothrombinzeit PT ($p < 0,0001$) und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit aPTT ($p < 0,0001$) im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Für diese Gruppe Hohlfasersystem ergaben sich signifikant geringere Konzentrationen für das Fibrinogen ($p < 0,0001$), den Faktor V ($p = 0,0019$) und das Antithrombin AT III ($p = 0,0004$) im Vergleich zur Zentrifuge. Des Weiteren war der Totalproteingehalt (TTP) ($p = 0,001$) sowie das Albumin ($p = 0,0001$) im Vergleich zur Zentrifuge beim Hohlfasersystem signifikant verringert. Die Lagerung des Plasmas bei Raumtemperatur für die Dauer der Blutkomponenten Gewinnung zeigte keinen nachteiligen Einfluss auf die Gerinnungsparameter.

Im Erythrozytenkonzentrat war der Hämatokrit bei der Gruppe Zentrifuge signifikant ($p = 0,04$) höher im Vergleich zum Hohlfasersystem. Der Gehalt an Erythrozyten und Hämoglobin war im EK der Gruppe Zentrifuge höher, sodass hierfür ein signifikanter Unterschied zwischen den Systemen ausfindig gemacht werden konnte. Bei der Gruppe Zentrifuge zeigte sich zudem eine signifikante Verringerung in der Konzentration des TTP ($p = 0,0002$) und des Albumins ($p < 0,0001$) im Vergleich zur Gruppe Hohlfasersystem. Die Gruppe Hohlfasersystem wies bei der Betrachtung der prozentualen Differenz zwischen dem VB- und EK-Beutel signifikant niedrigere Gehalte an Thrombozyten ($p = 0,01$) und Leukozyten ($p = 0,002$) auf sowie einen signifikant niedrigeren pCO_2 ($p = 0,02$) Gehalt, im Vergleich zur Gruppe Zentrifuge. Des Weiteren zeigte die Gruppe Hohlfasersystem eine signifikant höhere Laktat Konzentration ($p = 0,0012$).

Schlussfolgerung

Anhand der erhobenen Daten dieser Studie kann geschlussfolgert werden, dass die Qualität der Blutprodukte die mithilfe der Zentrifuge hergestellt wurden besser waren, als zum hier getesteten Hohlfasersystem. Dies gilt insbesondere für die Plasmaqualität. Inwieweit die Reduktion einzelner Gerinnungsparameter trotz statistischer Signifikanzen eine klinische Bedeutung beim therapeutischen Einsatz hat, ist in weiteren Studien näher zu evaluieren. Für den Fall, dass keine Zentrifuge zur Verfügung steht, stellt das Hohlfasersystem eine gute Alternative dar. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass der Blutspender keine Hyperlipidämie

aufweisen sollte, da in einem Fall das Hohlfasersystem beim Vorliegen einer Hyperlipidämie nicht funktionierte.

Summary

Background

The use of blood products is important to provide life-saving therapies in veterinary medicine, but the preparation of blood components is time-consuming due to the staff and technical conditions. The aim of this study was to evaluate the quality of blood products that were produced by using the centrifuge or by using the 3M™ blood separation system.

Study design and methods

The units were collected from healthy dogs (n=32) from February - June 2017 and were allocated to the groups centrifugation (n=15) or hollow-fibre system (n=16). In case of hyperlipidemia or a less volume in blood bags an exclusion happened. The samples for further examinations were taken from different sources (1) donor venous, 2) citrat plasma of the donor, 3) whole blood bag, 4) plasma bag 5) red blood cell bag, 6) citrat plasma of the whole blood bag after storage at room temperature for the duration of blood processing). The hematological investigation was performed using ADVIA® 2120 (Siemens Healthcare GmbH). The Cobas b 221 System (Roche Diagnostics) was used to examine the pH, pO₂, pCO₂, as well as the concentration of glucose and lactate. The measurement of the total protein, albumin, potassium, phosphate and LDH concentrations were conducted using ABX Pentra 400 (HORIBA ABX SAS). The evaluation of the parameters regarding the coagulation (PT, aPTT, factor V and VIII, fibrinogen, as well as AT III) was conducted using STA Compact® (Dagnostica Stago S.A.S.). The external labour LABOKLIN (LABOKLIN GmbH & Co. KG, Labor für klinische Diagnostik) analysed the concentration of vWF-antigen within the sample and the serum electrophoresis was analysed from the company BIOCONTROL, located in Ingelheim.

Results

The hollow-fibre system group had significant prolongation of the prothrombin time PT (p<0.0001) and activated partial thromboplastin time aPTT (p<0.0001). This group had significant lower concentrations of fibrinogen (p<0.0001), factor V (p=0.0019), and antithrombin AT III (p=0.0004) within the plasma, in contrast to the centrifugation group. In

Summary

addition, there was a significance in the lower concentration of the total protein TTP ($p=0.001$) and albumin ($p=0.0001$) in the hollow-fibre group as compared to the centrifuge group. Plasma storage at room temperature has no adverse effect on coagulation.

In comparison to the hollow-fibre system, the red blood cell concentration of the centrifugation group showed a significantly higher hematocrit hct ($p=0.04$). The content of red blood cells and hemoglobin was higher in the red blood cell concentrate of the centrifuge group, so that a significant difference between the systems can be shown. In addition, the centrifuge group had significant reductions in the concentrations of TTP ($p=0.0002$) and albumin ($p<0.0001$), in comparison to the group of the hollow-fibre.

When looking at the procentual difference between the whole blood bag and the red blood cell bag and in comparison to the centrifuge group, the hollow-fibre group showed lower concentrations of platelets ($p=0.01$) and white blood cells ($p=0.002$), which were significant, as well as a less significant $p\text{CO}_2$ ($p=0.02$) content. In addition, the hollow-fibre group had a significant higher lactate concentration ($p=0.0012$).

Conclusion

The quality of the blood products produced by using the centrifuge was better in comparison to the ones of this tested hollow-fibre system, especially for plasma quality. Despite the statistical significances regarding the reduction of several coagulation parameters, further investigations need to be conducted to evaluate the clinical importance. In case of an absence of a centrifuge, the hollow-fibre system provides an alternative to produce blood products. For that it is important that the donor has fasted, otherwise the hollow-fibre system can fail when hyperlipidemia is present.

Danksagung

Zu guter Letzt möchte ich mich an dieser Stelle bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei Prof. Dr. Andreas Moritz für die Unterstützung in jeglicher Hinsicht und die Überlassung dieses interessanten Themas bedanken. Es ist wirklich schön zu wissen, dass es Menschen gibt die einem bei Problemen zur Seite stehen und einen unterstützen, um das Beste aus der jeweiligen Situation zu machen. Ich bin nach wie vor sehr glücklich darüber, Sie als Doktorvater gehabt haben zu dürfen. Eine solch gute Betreuung wie Sie sie anbieten ist sicherlich nicht selbstverständlich und in meinen Augen darf sich jeder glücklich schätzen, der bei seinem Dissertationsvorhaben von Ihnen betreut und unterstützt wird. Recht herzlichen Dank dafür!

Ein sehr großes Dankeschön geht auch an Frau Dr. Esther Haßdenteufel und Herrn Hendrik Lehmann. Vielen lieben Dank für die nette Arbeitsatmosphäre und die angenehme Zusammenarbeit.

Ein herzliches Dankschön geht an alle Mitarbeiter/-innen des Zentrallabors der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen. Vielen lieben Dank für eure kompetente Arbeitsweise und für die Durchführung von unzähligen Probenmessungen. Ihr habt einen wichtigen Teil dazu beigetragen, dass dieses Dissertationsprojekt erfolgreich durchgeführt werden konnte.

Des Weiteren möchte ich mich bei PD Dr. Natali Bauer für die Einführung in die Statistik bedanken. Danke, dass du mir bei den unterschiedlichsten Fragestellungen immer geduldig zur Seite standest. Dies hat wirklich vieles erleichtert.

Mein nächstes Dankeschön geht an die Firma 3M Deutschland GmbH, die die Durchführung dieser Studie erst möglich gemacht hat und an Herrn Dr. Florian Bonn für die zur Verfügung gestellten Informationen.

Danksagung

Ich möchte mich des Weiteren bei allen Besitzern bedanken, die ihre Hunde für die Blutspende zur Verfügung gestellt haben. Somit konnten nicht nur zahlreiche Hundeleben gerettet werden, sondern auch ein Beitrag für die Forschung geleistet werden.

Zu guter Letzt möchte ich von ganzem Herzen meiner Familie und insbesondere meinen Eltern danken. Danke für eure ganze Liebe, eurer Verständnis und dass ich immer auf euch zählen kann.

Literaturnachweise

3M Deutschland GmbH, "MicroPES® TF10. Data sheet".

3M Deutschland GmbH (2016), 3MTM-Blood-Separation-System.

Abate, O., Zanatta, R., Malisano, T. and Dotta, U. (2000), "Canine serum protein patterns using high-resolution electrophoresis (HRE)", *Veterinary journal* (London, England 1997), Vol. 159 No. 2, pp. 154–160.

About Enein, A.A., Abdel Rahman, H.A., Abdel Maged, Mohamed M.M. and El Sissy, M.H. (2016), "The effect of different methods of leucoreduction on plasma coagulation factors", *Blood coagulation & fibrinolysis an international journal in haemostasis and thrombosis*, Vol. 27 No. 0., pp. 1-4

ABX Diagnostics, Testanleitung: Reagenz für die quantitative in Vitro-Bestimmung von Albumin in Serum und Plasma mittels Kolorimetrie.

ABX Diagnostics, Testanleitung: Reagenz für die quantitative in Vitro-Bestimmung von Phosphor in Serum, Plasma und Urin mittels Kolorimetrie.

Adams, F., Bellairs, G., Bird, A.R. and Oguntibeju, O.O. (2015), "Biochemical storage lesions occurring in nonirradiated and irradiated red blood cells: a brief review", *BioMed research international*, pp. 1–8.

Alhumaidan, H.S., Cheves, T.A., Holme, S. and Sweeney, J.D. (2013), "The effect of filtration on residual levels of coagulation factors in plasma", *American journal of clinical pathology*, Vol. 139 No. 1, pp. 110–116.

Amin, T.M. and Sirs, J.A. (1985), "The blood rheology of man and various animal species", *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, Vol. 70 No. 1, pp. 37–49.

Antonelou, M.H., Kriebardis, A.G., Stamoulis, K.E., Economou-Petersen, E., Margaritis, L.H. and Papassideri, I.S. (2010), "Red blood cell aging markers during storage in citrate-phosphate-dextrose-saline-adenine-glucose-mannitol", *Transfusion*, Vol. 50 No. 2, pp. 376–389.

Axonlab, Axon Lab LDH IFCC Packungsbeileger.

- Bala, D.A., Eraslan, E., Akyazi, I., Ekiz, E.E., Ozcan, M., Coteliloglu, U. and Arslan, M. (2016), "Freezing and storage of leukodepleted erythrocyte suspensions", *Veterinarni Medicina*, Vol. 61 No. 8, pp. 443–448.
- Bårdgard, A.J. and Brix, O. (1997), "Functional characterisation of eskimo dog hemoglobin: II. The interplay of HCO₃⁻ and Cl⁻", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 177A No. 3, pp. 375–381.
- Bauer, N. and Moritz, A. (2008), "Koagulopathien bei Hund und Katze", *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, No. 4, pp. 235–246.
- Benesch, R. and Benesch, R.E. (1967), "The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 26 No. 2, pp. 162–167.
- Besselink, G.A.J., Ebbing, I.G., Hilarius, P.M., Korte, D. de, Verhoeven, A.J. and Lagerberg, J.W.M. (2003), "Composition of the additive solution affects red blood cell integrity after photodynamic treatment", *Vox Sanguinis*, Vol. 85 No. 3, pp. 183–189.
- Blasi, B., D'Alessandro, A., Ramundo, N. and Zolla, L. (2012), "Red blood cell storage and cell morphology", *Transfusion medicine (Oxford, England)*, Vol. 22 No. 2, pp. 90–96.
- Bohoněk, M. (2009), "Data analysis of in-vitro parameters of plasma and red blood cells after the separation with Erysep", *Erysep/blood separation technology by gravity induced clinical study booklet*, LMB Technologie GmbH.
- Bossuyt, X. (2003), "Separation of serum proteins by automated capillary zone electrophoresis", *Clinical chemistry and laboratory medicine*, Vol. 41 No. 6, pp. 762–772.
- Bratosin D., Estaquier J., Ameisen J.C. and Montreuil J. (2002), "Molecular and Cellular Mechanisms of Erythrocyte Programmed Cell Death: Impact on Blood Transfusion", *Vox sanguinis*, Vol. 83, pp. 307–310.
- Brownlee, L., Wardrop, K.J., Sellon, R.K. and Meyers, K.M. (2000), "Use of a Prestorage Leukoreduction Filter Effectively Removes Leukocytes from Canine Whole Blood While Preserving Red Blood Cell Viability", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 14 No. 4, pp. 412–417.

- Brune, T., Hannemann-Pohl, K., Nißle, K., Ecker, N. and Garritsen, H. (2009), "Quality, stability, and safety data of packed red cells and plasma processed by gravity separation using a new fully integrated hollow-fibre filter device", *Advances in hematology*, Vol. 2009, pp. 1–6.
- Brunker, J. (2005), "Protein-Losing Nephropathy", *Compendium*, Vol. 27 No. 9, pp. 686–695.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (2011), *Leitlinien zur Gewinnung, Lagerung, Transport und Verabreichung von Blut und Blutprodukten im Veterinärbereich*, pp. 1–24.
- Bundesministerium der Justiz und Verbraucherschutz (2016), *Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz-AMG)*, §§ 1-4, pp.8-14.
- Callan, M.B., Patel, R.T., Rux, A.H., Bandyopadhyay, S., Sireci, A.N., O'Donnell, P.A., Ruane, T., Sikora, T., Marryott, K., Sachais, B.S. and Hod, E.A. (2013), "Transfusion of 28-day-old leucoreduced or non-leucoreduced stored red blood cells induces an inflammatory response in healthy dogs", *Vox sanguinis*, Vol. 105 No. 4, pp. 319–327.
- Cambier, C., Wierinckx, M., Clerbaux, T., Detry, B., Liardet, M.-P., Marville, V., Frans, A. and Gustin, P. (2004), "Haemoglobin oxygen affinity and regulating factors of the blood oxygen transport in canine and feline blood", *Research in veterinary science*, Vol. 77 No. 1, pp. 83–88.
- Cardigan, R., Sutherland, J., Garwood, M., Krailadsiri, P., Seghatchian, J., Beard, M., Beckman, N. and Williamson, L.M. (2001), "The effect of leucocyte depletion on the quality of fresh-frozen plasma", *British Journal of Haematology*, Vol. 114 No. 1, pp. 233–240.
- Chan, K.S.-K. and Sparrow, R.L. (2014), "Microparticle profile and procoagulant activity of fresh-frozen plasma is affected by whole blood leukoreduction rather than 24-hour room temperature hold", *Transfusion*, Vol. 54 No. 8, pp. 1935–1944.
- Chaudhary, R. and Katharia, R. (2012), "Oxidative injury as contributory factor for red cells storage lesion during twenty eight days of storage", *Blood transfusion*, Vol. 10 No. 1, pp. 59–62.

- Chiaramonte, D. (2004), "Blood-component therapy: selection, administration and monitoring", *Clinical techniques in small animal practice*, Vol. 19 No. 2, pp. 63–67.
- Clerbaux, T.H., Gustin, P., Detry, B., Cao, M.L. and Frans, A. (1993), "Comparative study of the oxyhaemoglobin dissociation curve of four mammals: man, dog, horse and cattle", *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, Vol. 106 No. 4, pp. 687–694.
- Crivellente, F., Bonato, M. and Cristofori, P. (2008), "Analysis of mouse, rat, dog, marmoset, and human serum proteins by capillary electrophoresis: comparison with agarose gel electrophoresis", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 37 No. 1, pp. 73–78.
- Davidow, B. (2013), "Transfusion medicine in small animals", *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, Vol. 43 No. 4, pp. 735–756.
- Devaux, P.F., Herrmann, A., Ohlwein, N. and Kozlov, M.M. (2008), "How lipid flippases can modulate membrane structure", *Biochimica et biophysica acta*, Vol. 1778, pp. 1591–1600.
- Diagnostica Stago S.A.S. (2009), "Referenzhandbuch STA Compact", 0931031L, Frankreich.
- Dzik, S., Aubuchon, J., Jeffries, L., Kleinman, S., Manno, C., Murphy, M.E., Popovsky, M.A., Sayers, M., Silberstein, L.E., Slichter, S.J. and Vamvakas, E.C. (2000), "Leukocyte Reduction of Blood Components: Public Policy and New Technology", *Transfusion Medicine Reviews*, Vol. 14 No. 1, pp. 34–52.
- Ergül Ekiz, E., Arslan, M., Akyazi, İ., Eraslan Uygur, E., İnal Gültekin, G. and Özcan, M. (2012), "The effects of prestorage leukoreduction and storage duration on the in vitro quality of canine packed red blood cells", *Turkish journal of veterinary and animal sciences*, Vol. 36 No. 6, pp. 711–717.
- Errico, G., Giordano, A. and Paltrinieri, S. (2012), "Diagnostic accuracy of electrophoretic analysis of native or defibrinated plasma using serum as a reference sample", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 41 No. 4, pp. 529–540.
- Esmon, C.T. (2006), "Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway", *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 32 Suppl 1, pp. 49–60.

- European Committee on Blood Transfusion (2015), Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components: Recommendation No. R (95)15: 18 th edition, Council of Europe, Strasbourg.
- Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research (2012), Guidance for Industry: Pre-Storage Leukocyte Reduction of Whole Blood and Blood Components Intended for Transfusion.
- Furlanello, T., Caldin, M., Stocco, A., Tudone, E., Tranquillo, V., Lubas, G. and Solano-Gallego, L. (2006), "Stability of stored canine plasma for hemostasis testing", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 35 No. 2, pp. 204–207.
- Gevi, F., D'Alessandro, A., Rinalducci, S. and Zolla, L. (2012), "Alterations of red blood cell metabolome during cold liquid storage of erythrocyte concentrates in CPD-SAGM", *Journal of proteomics*, Vol. 76, pp. 168–180.
- Giordano, A. and Paltrinieri, S. (2010), "Interpretation of capillary zone electrophoresis compared with cellulose acetate and agarose gel electrophoresis: reference intervals and diagnostic efficiency in dogs and cats", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 39 No. 4, pp. 464–473.
- Greening, D.W., Glenister, K.M., Sparrow, R.L. and Simpson, R.J. (2010), "International blood collection and storage: clinical use of blood products", *Journal of proteomics*, Vol. 73 No. 3, pp. 386–395.
- Grochowsky, A.R., Rozanski, E.A., Laforcade, A.M. de, Sharp, C.R., Meola, D.M., Schavone, J.J. and Brooks, M.B. (2014), "An ex vivo evaluation of efficacy of refrigerated canine plasma", *Journal of veterinary emergency and critical care (San Antonio, Tex. 2001)*, Vol. 24 No. 4, pp. 388–397.
- Gros, G. (2009), "Atmung", in von Engelhardt, W. (Ed.), *Physiologie der Haustiere*, 3rd ed., Enke, Stuttgart, pp. 255–263.
- Guest, M.M., Bond, T.P., Cooper, R.G. and Derrick, J.R. (1963), "Red Blood Cells. Change in Shape in Capillaries", *Science*, Vol. 142 No. 3597, pp. 1319–1321.
- Hackeng, T.M., Maurissen, L.F.A., Castoldi, E. and Rosing, J. (2009), "Regulation of TFPI function by protein S", *Journal of thrombosis and haemostasis JTH*, 7 Suppl 1, pp. 165–168.

- Hackstein, H., Möller, A., Gerlach, M., Sachs, U. and Bein, G. (2017), "Prospective quality control study of a novel gravity-driven whole blood separation system suitable for humanitarian crises", *Vox sanguinis*, Vol. 112 No. 8, pp. 806–809.
- Hannemann-Pohl, K. (2005), "Klinische Prüfung des Sangofer Blutentnahme- und Verarbeitungssystems mit Leukozytendepletion", pp. 1–10.
- Harvey, J.W. (2012), *Veterinary hematology: A diagnostic guide and color atlas*, Elsevier/Saunders, St. Louis, Missouri.
- Heiden, M., Salge, U., Henschler, R., Pfeiffer, H.-U., Volkers, P., Hesse, J., Sireis, W. and Seitz, R. (2004), "Plasma quality after whole-blood filtration depends on storage temperature and filter type", *Transfusion medicine (Oxford, England)*, Vol. 14 No. 4, pp. 297–304.
- Herring, J. and McMichael, M. (2012), "Diagnostic approach to small animal bleeding disorders", *Topics in companion animal medicine*, Vol. 27 No. 2, pp. 73–80.
- Hess, J.R. (2006), "An update on solutions for red cell storage", *Vox sanguinis*, Vol. 91 No. 1, pp. 13–19.
- Hess, J.R. (2010), "Red cell changes during storage", *Transfusion and Apheresis Science*, Vol. 43 No. 1, pp. 51–59.
- Hess, J.R. (2014), "Measures of stored red blood cell quality", *Vox sanguinis*, Vol. 107 No. 1, pp. 1–9.
- Hess, J.R. and Greenwalt, T.G. (2002), "Storage of red blood cells: new approaches", *Transfusion Medicine Reviews*, Vol. 16 No. 4, pp. 283–295.
- Hess, J.R., Hill, H.R., Oliver, C.K., Lippert, L.E. and Greenwalt, T.J. (2002), "Alkaline CPD and the preservation of RBC 2,3-DPG", *Transfusion*, Vol. 42 No. 6, pp. 747–752.
- Hess, J.R., Lippert, L.E., Derse-Anthony, C.P., Hill, H.R., Oliver, C.K., Rugg, N., Knapp, A.D., Gormas, J.F. and Greenwalt, T.J. (2000), "The effects of phosphate, pH, and AS volume on RBCs stored in saline-adenine-glucose-mannitol solutions", *Transfusion*, Vol. 40, pp. 1000–1006.

- Högman, C.F. (1998), "Preparation and preservation of red cells", *Vox sanguinis*, Vol. 74 No. S2, pp. 177–187.
- Hoffman, M. and Monroe, D.M. (2001), "A cell-based model of hemostasis", *thrombosis and haemostasis*, Vol. 85 No. 6, pp. 958-965.
- HORIBA ABX SAS (2010), Additional User Information; France.
- Hornsey, V.S., McColl, K., Drummond, O. and Prowse, C.V. (2005), "Separation of whole blood into plasma and red cells by using a hollow-fibre filtration system", *Vox sanguinis*, Vol. 89 No. 2, pp. 81–85.
- Hosseini, H., Dorgalaleh, A., Tabibian, S., Kashiri, M., Sanei Moghaddam, E., Alizadeh, S., Bamedi, T., Esmaeili Reykande, S. and Dorgalaleh, S. (2014), "Biochemical Interfering Factors and Blood Cells Indices", *Thrita*, Vol. 3 No. 1.
- Ikura, K., Sasaki, R., Narita, H., Sucimoto, E. and Chiba, H. (1976), "Multifunctional enzyme, bisphosphoglyceromutase/2,3-bisphosphoglycerate phosphatase/phosphoglyceromutase, from human erythrocytes", *European Journal of Biochemistry*, Vol. 66, pp. 515–522.
- Ilkiw, J.E., Rose, R.J. and Martin, I.C.A. (1991), "A Comparison of Simultaneously Collected Arterial, Mixed Venous, Jugular Venous and Cephalic Venous Blood Samples in the Assessment of Blood-Gas and Acid-Base Status in the Dog", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 5 No. 5, pp. 294–298.
- Jensen, F.B. (2004), "Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport", *Acta physiologica Scandinavica*, Vol. 182 No. 3, pp. 215–227.
- Johnson, L., Kwok, M. and Marks, D.C. (2015), "Preparation of red blood cell concentrates and plasma units from whole blood held overnight using a hollow-fibre separation system", *Transfusion medicine (Oxford, England)*, Vol. 25 No. 1, pp. 13–19.
- Johnstone, I.B., Keen, J., Halbert, A. and Crane, S. (1991), "Stability of factor VIII and von Willebrand factor in canine blood samples during storage", *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 32 No. 3, pp. 173–175.

- Kisielewicz, C. and Self, I.A. (2014), "Canine and feline blood transfusions: controversies and recent advances in administration practices", *Veterinary anaesthesia and analgesia*, Vol. 41 No. 3, pp. 233–242.
- Kurup, P.A., Arun, P., Gayathri, N.S., Dhanya, C.R. and Indu, A.R. (2003), "Modified formulation of CPDA of storage of whole blood, and of SAGM for storage of red blood cells, to maintain the concentration of 2,3-diphosphoglycerate", *Vox sanguinis*, Vol. 85, pp. 253–261.
- Labor+Technik Eberhard Lehmann Packungsbeilage, "Gesamt-Eiweiß Biuret" pp.1-2.
- Lacerda, L.A., Hlavac, N.R.C., Terra, S.R., Back, F.P., Jane Wardrop, K. and González, F.H.D. (2014), "Effects of four additive solutions on canine leukoreduced red cell concentrate quality during storage", *Veterinary clinical pathology / American Society for Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 43 No. 3, pp. 362–370.
- Lanevski, A. and Wardrop, K.J. (2001), "Principles of transfusion medicine in small animals", *Canadian Veterinary Journal*, Vol. 42, pp. 447–454.
- Lubas, G., Caldin, M., Wiinberg, B. and Kristensen, A.T. (2010), "Laboratory Testing of Coagulation Disorders", in Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. (Eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th Edition, 6th ed., Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, pp. 1082–1100.
- Lucas, R.L., Lentz, K.D. and Hale, A.S. (2004), "Collection and preparation of blood products", *Clinical techniques in small animal practice*, Vol. 19 No. 2, pp. 55–62.
- Lukin, J.A. and Ho, C. (2004), "The structure-function relationship of hemoglobin in solution at atomic resolution", *Chemical reviews*, Vol. 104 No. 3, pp. 1219–1230.
- Mansell, P.D. and Parry, B.W. (1991), "Stability of canine factor VIII activity and von Willebrand factor antigen concentration in vitro", *Research in veterinary science*, pp. 313–316.
- Marconato, L., Crispino, G., Finotello, R., Mazzotti, S., Salerni, F. and Zini, E. (2009), "Serum lactate dehydrogenase activity in canine malignancies", *Veterinary and comparative oncology*, Vol. 7 No. 4, pp. 236–243.
- Marengo-Rowe, A.J. (2006), "Structure-function relations of human hemoglobins", *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*, Vol. 19 No. 3, pp. 239–245.

- Martinez-Subiela, S., Tecles, F., Montes, A., Gutiérrez, C. and Cerón, J.J. (2002), "Effects of Haemolysis, Lipaemia, Bilirubinaemia and Fibrinogen on Protein Electropherogram of Canine Samples Analysed by Capillary Zone Electrophoresis", *The Veterinary Journal*, Vol. 164 No. 3, pp. 261–268.
- McGrotty, Y. and Knottenbelt, C. (2002), "Significance of plasma protein abnormalities in dogs and cats", *In Practice*, Vol. 24 No. 9, pp. 512–517.
- McMichael, M. (2005), "Primary hemostasis", *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, Vol. 15 No. 1, pp. 1–8.
- McMichael, M. (2012), "New models of hemostasis", *Topics in companion animal medicine*, Vol. 27 No. 2, pp. 40–45.
- McMichael, M.A., Smith, S.A., Galligan, A., Swanson, K.S. and Fan, T.M. (2010), "Effect of leukoreduction on transfusion-induced inflammation in dogs", *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 24 No. 5, pp. 1131–1137.
- Morera, D. and MacKenzie, S.A. (2011), "Is there a direct role for erythrocytes in the immune response?", *Veterinary research*, Vol. 42, p. 89.
- Morgan, T.J. (1999), "The Oxyhaemoglobin Dissociation Curve in Critical Illness", *Critical Care and Resuscitation*, Vol. 1 No. 1, pp. 93–100.
- Moritz, A. (2000), "Der Einsatz lasergestützter Multiparameter-Hämatologiesysteme in der Veterinärmedizin", *Büchse der Pandora Verlag, Gießen*.
- Mudge, M.C., Macdonald, M.H., Owens, S.D. and Tablin, F. (2004), "Comparison of 4 blood storage methods in a protocol for equine pre-operative autologous donation", *Veterinary surgery VS*, Vol. 33 No. 5, pp. 475–486.
- Mueggler, P.A. and Black, J.A. (1982), "Postnatal regulation of canine oxygen delivery: control of erythrocyte 2,3-DPG levels", *The American Journal of Physiological Society*, Vol. 242 No. 4, pp. 500–506.
- Mueggler, P.A., Jones, G., Peterson, J.S., Bissonnette, J.M., Koler, R.D., Metcalfe, J., Jones, R.T. and Black, J.A. (1980), "Postnatal regulation of canine oxygen delivery: erythrocyte

- components affecting Hb function", *The American journal of physiology*, Vol. 238 No. 1, pp. 73–79.
- Nelson, O.L. and Andreasen, C. (2003), "The Utility of Plasma D-dimer to Identify Thromboembolic Disease in Dogs", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 17 No. 6, pp. 830–834.
- Nikolac, N. (2014), "Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management", *Biochemia medica*, Vol. 24 No. 1, pp. 57–67.
- Notomi, M.K., Gopegui, R.R. de and Escodro, P.B. (2016), "Haematologic effects of leukoreduction on canine whole blood post-filtration and post-storage", *Comparative Clinical Pathology*, Vol. 25 No. 1, pp. 145–149.
- Pashmakova, M.B., Barr, J.W. and Bishop, M.A. (2015), "Stability of hemostatic proteins in canine fresh-frozen plasma thawed with a modified commercial microwave warmer or warm water bath", *American journal of veterinary research*, Vol. 76 No. 5, pp. 420–425.
- Piccione, G., Casella, S., Giannetto, C. and Giudice, E. (2010), "Effect of storage conditions on prothrombin time, activated partial thromboplastin time and fibrinogen concentration on canine plasma samples", *Journal of Veterinary Science*, Vol. 11 No. 2, pp. 121–123.
- Pötzsch, B. and Madlener, K. (2010), *Hämostaseologie*, 2., vollständig aktualisierte und erweiterte Auflage, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Kapitel 1 Hämostasesystem, pp. 7–12.
- Price, G.S., Armstrong, P.J., McLeod, D.A., Babineau, C.A., Metcalf, M.R. and Sellett, L.C. (1988), "Evaluation of Citrate-Phosphate- Dextrose-Adenine as a Storage Medium for Packed Canine Erythrocytes", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 2 No. 3, pp. 126–132.
- Purcell, S.L., Claus, M., Hosgood, G. and Smart, L. (2015), "Effect of leukoreduction on concentrations of interleukin-8, interleukin-1 β , and tumor necrosis factor- α in canine packed red blood cells during storage", *American journal of veterinary research*, Vol. 76, pp. 969–974.

- Rapaille, A., Moore, G., Siquet, J., Flament, J. and Sondag-Thull, D. (1997), "Prestorage Leukocyte Reduction with In-Line Filtration of Whole Blood. Evaluation of Red Cells and Plasma Storage", *Vox Sanguinis*, Vol. 73 No. 1, pp. 28–35.
- Rapoport, Tom, A., Heinrich, R. and Rapoport, S.M. (1976), "The regulatory principles of glycolysis in erythrocytes in vivo and in vitro. A minimal comprehensive model describing steady states, quasi-steady states and time-dependent processes", *Biochemical Journal*, Vol. 154, pp. 449–469.
- Rieser, T.M. (2013), "Arterial and venous blood gas analyses", *Topics in companion animal medicine*, Vol. 28 No. 3, pp. 86–90.
- Riggert, J., Schwartz, D.W.M., Wieding, J.U., Mayr, W.R. and Köhler, M. (1997), "Prestorage inline filtration of whole blood for obtaining white cell- reduced blood components", *Transfusion*, Vol. 37 No. 10, pp. 1039–1044.
- Rossi, S., Bertazzolo, W., Paltrinieri, S. and Giordano, A. (2008), "Cellulose acetate electrophoresis of canine plasma after fibrinogen precipitation by ethanol", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 37 No. 4, pp. 422–428.
- Rozanski, E. and Laforcade, A.M. de (2004), "Transfusion medicine in veterinary emergency and critical care medicine", *Clinical techniques in small animal practice*, Vol. 19 No. 2, pp. 83–87.
- Ruggeri, Z.M. (2003), "Von Willebrand factor, platelets and endothelial cell interactions", *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, Vol. 1 No. 7, pp. 1335–1342.
- Runkel, S., Bach, J., Haubelt, H., Anders, C., Hitzler, W. and Hellstern, P. (2005), "The impact of two whole blood inline filters on markers of coagulation, complement and cell activation", *Vox sanguinis*, Vol. 88 No. 1, pp. 17–21.
- Sainz, Ángel; Roura, Xavier; Miró, Guadalupe; Estrada-Peña, Agustín; Kohn, Barbara; Harrus, Shimon; Solano-Gallego, Laia (2015), "Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe", *Parasites & vectors*, Vol. 8 No. 75, pp. 1-20.
- Schwarzfischer, G., Heim, M.U. and Mempel, W. (1992), "Der Einsatz eines einfachen Hohlfiltersystems zur Auftrennung von präoperativen Eigenblutspenden", *Hämatologie, Sympomed*, Vol. 1, pp. 108–113.

- Scott, Kirby L.; Lecak, Jelena; Acker, Jason P. (2005), "Biopreservation of Red Blood Cells Past, Present, and Future", *Transfusion Medicine Reviews*, Vol. 19 No. 2, pp.127-142.
- Sekiguchi, S., Takahashi, T.A., Yamamoto, S., Hasegawa, H., Takenaka, Y., Suemitsu, J. and Fukumi, H. (1990), "A New Type of Blood Component Collector. Plasma Separation Using Gravity without any Electrical Devices", *Vox sanguinis*, Vol. 58 No. 3, pp. 182–187.
- Shimada, K., Kobayashi, M., KIMURA, S., Nishinaga, M., TAKEUCHI, K. and OZAWA, T. (1991), "Anticoagulant Heparin-like Glycosaminoglycans on Endothelial Cell Surface", *Japanese Circulation Journal*, Vol. 55 No. 10, pp. 1016–1021.
- Siemens Healthcare GmbH (2008), "Advia® 2120/2120i Hematology Systems. Bedienungsanleitung".
- Smalko, D., Johnstone, I.B. and Crane, S. (1985), "Submitting Canine Blood for Prothrombin Time and Partial Thromboplastin Time Determinations", *The Canadian Veterinary Journal*, Vol. 26 No. 4, pp. 135–137.
- Smith, J.W., Day, T.K. and Mackin, A. (2005), "Diagnosing bleeding disorders", *Compendium*, Vol. 27 No. 11.
- Smith, S.A. (2009), "The cell-based model of coagulation", *Journal of veterinary emergency and critical care*, Vol. 19 No. 1, pp. 3–10.
- Solheim, B.G., Flesland, O., Seghatchian, J. and Brosstad, F. (2004), "Clinical implications of red blood cell and platelet storage lesions: an overview", *Transfusion and apheresis science*, Vol. 31 No. 3, pp. 185–189.
- Sparrow, R.L., Sran, A., Healey, G., Veale, M.F. and Norris, P.J. (2014), "In vitro measures of membrane changes reveal differences between red blood cells stored in saline-adenine-glucose-mannitol and AS-1 additive solutions: a paired study", *Transfusion*, Vol. 54 No. 3, pp. 560–568.
- Stockham, S.L. and Scott, M.A. (2008), *Fundamentals of veterinary clinical pathology: Hemostasis*, 2nd ed., Blackwell Pub, Ames, Iowa.
- Storz, J.F. and Moriyama, H. (2008), "Mechanisms of hemoglobin adaptation to high altitude hypoxia", *High altitude medicine & biology*, Vol. 9 No. 2, pp. 148–157.

- Tappin, S.W., Taylor, S.S., Tasker, S., Dodkin, S.J., Papasouliotis, K. and Murphy, K.F. (2011), "Serum protein electrophoresis in 147 dogs", *The Veterinary record*, Vol. 168 No. 17.
- Tothova, C., Nagy, O. and Kovac, G. (2016), "Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine. A review", *Veterinárni Medicína*, Vol. 61 No. 9, pp. 475–496.
- Tyuma, I. (1984), "The Bohr Effect and the Haldane Effect in Human Hemoglobin", *Japanese Journal of Physiology*, Vol. 34 No. 2, pp. 205–216.
- van Wijk, R. and van Solinge, W.W. (2005), "The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis", *Blood*, Vol. 106 No. 13, pp. 4034–4042.
- Voigt, J.A., Schmidt, J., Riss, R. and Schmitz, M. (2016), "Physiologie und Pathophysiologie der Blutgerinnung", in Kneser, U., Horsch, R.E. and Lehnhardt, M. (Eds.), *Grundkurs Mikrochirurgie*, Springer Berlin Heidelberg, pp. 15–24.
- Wagner, D.D. (1990), "Cell biology of von Willebrand factor", *Annual review of cell biology*, Vol. 6, pp. 217–246.
- Walton, J. (2014), "Transfusion medicine today", *Veterinary practice today*, pp. 22–24.
- Wardrop, K.J. and Brooks, M.B. (2001), "Stability of Hemostatic Proteins in Canine Fresh Frozen Plasma Units", *Veterinary Clinical Pathology*, Vol. 30 No. 2, pp. 91–95.
- Wardrop, K.J., Owen, T.J. and Meyers, K.M. (1994), "Evaluation Of An Additive Solution For Preservation Of Canine Red Blood Cells", *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Vol. 8 No. 4, pp. 253–257.
- Weiss, D.J. and Wardrop, K.J. (Eds.) (2010), *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th Edition, 6th ed., Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.
- Williamson, L.M., Rider, J.R., Swann, I.D., Winter, M.A., Ali, F. and Pamphilon, D.H. (1999), "Evaluation of plasma and red cells obtained after leucocyte depletion of whole blood", *Transfusion Medicine*, Vol. 9 No. 1, pp. 51–61.
- Windberger, U., Bartholovitsch, A., Plasenzotti, R., Korak, K.J. and Heinze, G. (2003), "Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian

- species: reference values and comparison of data", *Experimental Physiology*, Vol. 88 No. 3, pp. 431–440.
- Xenoulis, P.G. and Steiner, J.M. (2010), "Lipid metabolism and hyperlipidemia in dogs", *The Veterinary Journal*, Vol. 183 No. 1, pp. 12–21.
- Zaias, J., Mineau, M., Cray, C., Yoon, D. and Altman, N.H. (2009), "Reference Values for Serum Proteins of Common Laboratory Rodent Strains", *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, Vol. 48 No. 4, pp. 387–390.
- Zander, R. and Sumpelmann, R. (2001), "Säure-Basen-Status gelagerter und gewaschener Erythrozyten", *Anästhesiologie · Intensivmedizin · Notfallmedizin · Schmerztherapie*, Vol. 36 No. Suppl 1, pp. 25–30.
- Zheng, G., Schaefer, M. and Karplus, M. (2013), "Hemoglobin Bohr effects: atomic origin of the histidine residue contributions", *Biochemistry*, Vol. 52 No. 47, pp. 8539–8555.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Phasen der Zellschichtung nach Volumen (1. Phase) und spezifischem Gewicht (2. Phase)	6
Abbildung 2: Vereinfachtes Schema der Gerinnung sowie der Faktoren der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT) und Prothrombinzeit (PT)	14
<i>Abbildung 3: Schematische Darstellung des 3M™ Blood Separation Systems (mit freundlicher Genehmigung von 3M Deutschland GmbH)</i>	<i>31</i>
Abbildung 4: Rasterelektronenmikroskopisches Bild der Kapillarmembran (mit freundlicher Genehmigung von 3M Deutschland GmbH)	33
Abbildung 5: Austritt von Plasma aus der Kapillarmembran.....	33
Abbildung 6: Vergleich der Systeme in Bezug auf die PT an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	48
Abbildung 7: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der PT zwischen den Systemen	49
Abbildung 8: Vergleich der Systeme in Bezug auf die aPTT an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	50
Abbildung 9: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der aPTT zwischen den Systemen	51
Abbildung 10: Vergleich der Systeme in Bezug auf die Fibrinogen Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten	52
Abbildung 11: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Fibrinogens zwischen den Systemen.....	53

Abbildung 12: Vergleich der Systeme in Bezug auf den FV an den unterschiedlichen Entnahmeorten	54
Abbildung 13: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der FV Konzentration zwischen den Systemen.....	55
Abbildung 14: Vergleich der Systeme in Bezug auf die F VIII Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten	56
Abbildung 15: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der F VIII Konzentration zwischen den Systemen.....	57
Abbildung 16: Vergleich der Systeme in Bezug auf das vWF-Antigen an den unterschiedlichen Entnahmeorten	58
Abbildung 17: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des vWF-Antigens zwischen den Systemen.....	59
Abbildung 18: Vergleich der Systeme in Bezug auf die AT III Konzentration an den unterschiedlichen Entnahmeorten	60
Abbildung 19: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des AT III zwischen den Systemen.....	61
Abbildung 20: Vergleich der Systeme in Bezug auf den TTP Gehalt an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	62
Abbildung 21: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des TTP im Hinblick auf die Plasmagewinnung zwischen den Systemen.....	63
Abbildung 22: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des TTP im Hinblick auf die EK-Gewinnung zwischen den Systemen.....	64
Abbildung 23: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Albumin (g/L) an den unterschiedlichen Entnahmeorten	65

Abbildung 24: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Albumin Gehaltes im Hinblick auf die Plasmagewinnung zwischen den Systemen.....	66
Abbildung 25: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Albumin Gehaltes im Hinblick auf die EK-Gewinnung zwischen den Systemen	67
Abbildung 26: Vergleich der Systeme in Bezug auf den Albumin Gehalt (%) an den unterschiedlichen Entnahmeorten	68
Abbildung 27: Vergleich der Systeme in Bezug auf die alpha-1 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten	69
Abbildung 28: Vergleich der Systeme in Bezug auf die alpha-2 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten	70
Abbildung 29: Vergleich der Systeme in Bezug auf die beta-1 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten	70
Abbildung 30: Vergleich der Systeme in Bezug auf die beta-2 Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten	71
Abbildung 31: Vergleich der Systeme in Bezug auf die gamma-Globuline an den unterschiedlichen Entnahmeorten	72
Abbildung 32: Darstellung des prozentualen Unterschiedes für Parameter der Elektrophorese zwischen den Systemen	73
Abbildung 33: Vergleich der Systeme in Bezug auf den Hkt an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	74
Abbildung 34: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Hkt zwischen den Systemen	75
Abbildung 35: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Hb an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	76

Abbildung 36: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Hb zwischen den Systemen	77
Abbildung 37: Vergleich der Systeme in Bezug auf das MCHC an den unterschiedlichen Entnahmeorten	78
Abbildung 38: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des MCHC zwischen den Systemen	79
Abbildung 39: Vergleich der Systeme in Bezug auf das CHCM an den unterschiedlichen Entnahmeorten	80
Abbildung 40: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des CHCM zwischen den Systemen	81
Abbildung 41: Vergleich der Systeme in Bezug auf das MCV an den unterschiedlichen Entnahmeorten	82
Abbildung 42: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des MCV zwischen den Systemen	83
Abbildung 43: Vergleich der Systeme in Bezug auf die RBC an den unterschiedlichen Entnahmeorten	84
Abbildung 44: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der RBC zwischen den Systemen	85
Abbildung 45: Vergleich der Systeme in Bezug auf die PLT an den unterschiedlichen Entnahmeorten	86
Abbildung 46: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der PLT zwischen den Systemen	87
Abbildung 47: Vergleich der Systeme in Bezug auf die WBC an den unterschiedlichen Entnahmeorten	88

Abbildung 48: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der WBC zwischen den Systemen.....	89
Abbildung 49: Vergleich der Systeme in Bezug auf das P an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	90
Abbildung 50: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des P zwischen den Systemen	91
Abbildung 51: Vergleich der Systeme in Bezug auf das K an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	92
Abbildung 52: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des Kaliums zwischen den Systemen.....	93
Abbildung 53: Vergleich der Systeme in Bezug auf die LDH an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	94
Abbildung 54: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der LDH zwischen den Systemen	95
Abbildung 55: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pH-Wert an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	96
Abbildung 56: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des pH-Wertes zwischen den Systemen.....	97
Abbildung 57: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pO_2 an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	98
Abbildung 58: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des pO_2 zwischen den Systemen	99
Abbildung 59: Vergleich der Systeme in Bezug auf den pCO_2 an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	100

Abbildung 60: Darstellung des prozentualen Unterschiedes des pCO ₂ zwischen den Systemen.....	101
Abbildung 61: Vergleich der Systeme in Bezug auf die Glukose an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	102
Abbildung 62: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der Glukose zwischen den Systemen.....	103
Abbildung 63: Vergleich der Systeme in Bezug auf das Laktat an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....	104
Abbildung 64: Darstellung des prozentualen Unterschiedes der Laktat Konzentration zwischen den Systemen.....	105
Abbildung 65: Darstellung des Volumens vom Vollblut-, Plasma-, und EK-Beutel im Gruppenvergleich.....	106
Abbildung 66: Darstellung der Separationsdauer im Gruppenvergleich.....	107

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Zusammensetzung der Stabilisator - und Additivlösung des Beutelsystems.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 2: Rasseverteilung der Studienteilnehmer.....</i>	<i>47</i>
Tabelle 3: Vergleich der Separationssysteme.....	133
Tabelle 4: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der PT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	166
Tabelle 5: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der aPTT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	166
Tabelle 6: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Fibrinogens für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	167
<i>Tabelle 7: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des F V für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....</i>	<i>167</i>
<i>Tabelle 8: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des FVIII für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten.....</i>	<i>168</i>
Tabelle 9: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des vWF-Antigens für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	168
Tabelle 10: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des AT III für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	169
Tabelle 11: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des TTP für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	169
Tabelle 12: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Albumins (g/l) für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten ..	170

Tabelle 13: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Albumins (%) für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 170

Tabelle 14: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des alpha-1 Globulins für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 171

Tabelle 15: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des alpha-2 Globulins für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 171

Tabelle 16: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der beta-1 Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten .. 172

Tabelle 17: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der beta-2 Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten .. 172

Tabelle 18: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der gamma-Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 173

Tabelle 19: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Hkt für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 173

Tabelle 20: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Hb für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 174

Tabelle 21: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des MCHC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 174

Tabelle 22: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des CHCM für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 175

Tabelle 23: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des MCV für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten 175

Tabelle 24: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der RBC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	176
Tabelle 25: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der PLT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	176
Tabelle 26: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der WBC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	177
Tabelle 27: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des P für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	177
Tabelle 28: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Kaliums für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten...	178
Tabelle 29: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der LDH für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	178
Tabelle 30: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pH-Wertes für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten ..	179
Tabelle 31: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pO ₂ für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	179
Tabelle 32: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pCO ₂ für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	180
Tabelle 33: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes der Glukose für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	180
Tabelle 34: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des Laktates für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten	181

Tabelle 35: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für die PT, aPTT, das Fibrinogen, den FV, FVIII, das vWF-Antigen und das AT III unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes	182
---	-----

<i>Tabelle 36: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für das TTP, Albumin und die Globuline unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes</i>	<i>183</i>
---	------------

Tabelle 37: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für die gamma-Globuline unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes	184
---	-----

<i>Tabelle 38: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und dem Vollblutbeutel für den Hkt, das Hb, CHCM, MCHC, MCV, die RBC und PLT unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes</i>	<i>185</i>
--	------------

Tabelle 39: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und Vollblutbeutel für die WBC, das TTP, Albumin, P, K, LDH und den pH-Wert unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes	186
--	-----

Tabelle 40: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und Vollblutbeutel für den pO ₂ , pCO ₂ , die Glukose und das Laktat unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes	187
---	-----

Tabelle 41: Darstellung des Volumens vom Vollblut- Plasma- und EK- Beutel sowie der Separationsdauer unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes	188
---	-----

Anhang

Tabelle 4: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der PT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

PT (sec) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	7,7	6,9	8,6
	VB-B	7,7	7,3	8,8
	P-B	9,4	7,7	12,4
	VB-B (RT)	7,7	7,2	9,1
PT (sec) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	7,8	6,9	8,6
	VB-B	7,7	6,9	9,2
	P-B	7,9	7,2	9
	VB-B (RT)	7,9	6,8	9,1
Referenzbereich		6,52 - 8,16 sec		

Tabelle 5: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der aPTT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

aPTT (sec) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	12	9,7	13,5
	VB-B	11,8	11,2	13,4
	P-B	14,9	11,7	19,6
	VB-B (RT)	11,9	11,2	13,5
aPTT (sec) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	11,9	10,4	32,8
	VB-B	12,1	9,7	13,4
	P-B	13,1	10,9	14,2
	VB-B (RT)	12,1	9,7	13,5
Referenzbereich		10,0 – 14,3 sec		

Tabelle 6: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Fibrinogens für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Fibrinogen (g/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,8	1,3	3,1
	VB-B	1,8	1,3	2,9
	P-B	1	0,4	1,6
	VB-B (RT)	1,8	1,2	3,4
Fibrinogen (g/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,6	1,3	2,8
	VB-B	1,6	1,0	2,4
	P-B	1,5	1,2	2,3
	VB-B (RT)	1,5	0,9	2,4
Referenzbereich		1,3 - 3,1 g/l		

Tabelle 7: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des FV für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

FV % (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	125,5	112	143
	VB-B	121	110	140
	P-B	105	73	125
	VB-B (RT)	122	106	140
FV % (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	126	110	146
	VB-B	130	105	151
	P-B	114	99	132
	VB-B (RT)	132	105	153
Referenzbereich		-		

Tabelle 8: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des FVIII für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

FVIII % (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	101	84	128
	VB-B	99,5	80	113
	P-B	86	60	97
	VB-B (RT)	103	77	115
FVIII % (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	98	76	126
	VB-B	103	73	133
	P-B	89	64	100
	VB-B (RT)	96	68	128
Referenzbereich	-			

Tabelle 9: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des vWF-Antigens für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

vWF-Antigen (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	136	55	212
	VB-B	123,5	51	189
	P-B	101	37	177
	VB-B (RT)	109	54	188
vWF-Antigen (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	111	43	186
	VB-B	75	9	140
	P-B	69	34	214
	VB-B (RT)	63	11	217
Referenzbereich	50 -180 %			

Tabelle 10: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des AT III für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

AT III (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	130,5	104	138
	VB-B	123,5	99	132
	P-B	104	93	116
	VB-B (RT)	125	99	133
AT III (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	132	110	170
	VB-B	129	94	164
	P-B	117	94	152
	VB-B (RT)	128	94	163
Referenzbereich	107,9 -128,0 %			

Tabelle 11: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des TTP für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

TTP (g/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	60,7	56,5	70,6
	VB-B	48,95	44,7	57,2
	P-B	42,2	32,6	46,6
	EK-B	15,5	9,7	22,2
TTP (g/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	63,1	58	68,7
	VB-B	50,9	46,4	55,4
	P-B	48	43,5	54,4
	EK-B	9,5	7,8	24,4
Referenzbereich	55,3 – 69,84 g/l			

Tabelle 12: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Albumins (g/l) für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Albumin (g/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	30,1	27,3	33,9
	VB-B	24	22	29,3
	P-B	21,5	19	25,1
	EK-B	7	5,3	11,6
Albumin (g/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	30,2	28	31,1
	VB-B	24,9	21,7	30,7
	P-B	23,5	21,5	27,6
	EK-B	4,5	3,4	8,7
Referenzbereich		29,6 – 37,01 g/l		

Tabelle 13: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Albumins (%) für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Albumin (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	60	54,2	64,1
	SP-CP	58,6	52,5	61,9
	VB-B	58,2	53,1	63,1
	P-B	58,4	53,3	64,8
Albumin (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	62,4	55,2	65,5
	SP-CP	61,8	52,8	63,7
	VB-B	60,5	54,4	63,9
	P-B	61,9	53,9	65
Referenzbereich		48,1 - 59,3 %		

Tabelle 14: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des alpha-1 Globulins für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

α1-Globuline (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	2,25	1,4	3,3
	SP-CP	2,15	1,1	3,3
	VB-B	2,85	0,9	4,8
	P-B	2,7	0,8	5,8
α1-Globuline (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	2	0,5	3
	SP-CP	2,3	1	4,3
	VB-B	2,5	1,3	4,9
	P-B	1,7	0,8	4,1
Referenzbereich		3,2 – 4,8 %		

Tabelle 15: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des alpha-2 Globulins für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

α2-Globuline (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	12,3	10,3	14,7
	SP-CP	11,7	9,1	14,9
	VB-B	12,2	7,1	15,3
	P-B	12,3	10	15,2
α2-Globuline (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	11,3	9,2	13,3
	SP-CP	11,1	9	13,5
	VB-B	11,4	10	14
	P-B	11	8,7	15,2
Referenzbereich		12,0 – 16,4 %		

Tabelle 16: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der beta-1 Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

β1-Globuline (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	2,7	1,3	3,6
	SP-CP	2,6	1,4	3,9
	VB-B	2,4	1,1	3,5
	P-B	2,8	0,9	4,4
β1-Globuline (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	2,7	1	4
	SP-CP	2,7	1,4	3,7
	VB-B	2,6	0,8	3,6
	P-B	2,7	1,2	3,7
Referenzbereich		2,7 – 4,1		

Tabelle 17: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der beta-2 Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

β2-Globuline (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	12,5	10,4	16,2
	SP-CP	14,5	12,3	18,9
	VB-B	13,9	11,4	20,4
	P-B	13	11,3	17,6
β2-Globuline (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	11,95	10,3	16,7
	SP-CP	13,85	10,4	19,9
	VB-B	14,25	11,2	16,5
	P-B	13,5	11,3	16,8
Referenzbereich		10,5 - 19,7		

Tabelle 18: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der gamma-Globuline für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

γ-Globuline (%) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	9,3	5,8	15,3
	SP-CP	9,45	6	15,2
	VB-B	8,9	5,6	15,1
	P-B	8,9	5,3	16,6
γ-Globuline (%) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP-S	10,3	4,2	15
	SP-CP	9,2	4,2	13,2
	VB-B	9,5	4,1	14
	P-B	8,9	3,8	16
Referenzbereich		6,6 – 12,2 %		

Tabelle 19: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Hkt für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Hkt (l/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	0,48	0,41	0,55
	VB-B	0,41	0,36	0,47
	P-B	0	0	0
	EK-B	0,57	0,53	0,62
Hkt (l/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	0,5	0,41	0,57
	VB-B	0,42	0,34	0,54
	P-B	0	0	0
	EK-B	0,62	0,55	0,67
Referenzbereich		0,39 – 0,56 l/l		

Tabelle 20: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Hb für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Hb (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	10,1	8,4	11,2
	VB-B	8,45	7,2	9,3
	P-B	0	0	0,1
	EK-B	11,6	10,5	14,5
Hb (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	10,4	8,3	12,1
	VB-B	8,6	6,8	10,8
	P-B	0	0	0,5
	EK-B	12,7	11,2	13,6
Referenzbereich		8,06 – 12,21 mmol/l		

Tabelle 21: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des MCHC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

MCHC (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	21,1	20,37	22,02
	VB-B	20,44	19,59	21,35
	P-B	0	0	78,67
	EK-B	20,56	19,75	21,76
MCHC (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	21,22	20,45	21,85
	VB-B	20,65	19,98	26,71
	P-B	0	0	0
	EK-B	20,49	19,91	21,35
Referenzbereich		20,82 – 23,53 mmol/l		

Tabelle 22: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des CHCM für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

CHCM (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	21,02	20,58	21,49
	VB-B	20,43	20,04	21,12
	P-B	20,42	0	24,95
	EK-B	19,94	19,5	20,59
CHCM (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	20,94	19,98	21,49
	VB-B	20,58	19,74	21,04
	P-B	20,85	0	22,46
	EK-B	20,03	19,4	20,59
Referenzbereich		20,82 – 23,53 mmol/l		

Tabelle 23: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des MCV für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

MCV (fL) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	69,1	66	72,3
	VB-B	70,2	66,7	74,3
	P-B	66,9	0	88,3
	EK-B	71,2	68,3	75,9
MCV (fL) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	69,6	65,5	75,9
	VB-B	70,6	66,5	77,2
	P-B	67,1	46,8	83,3
	EK-B	71,4	67,9	77,9
Referenzbereich		62,61 – 73,50 fL		

Tabelle 24: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der RBC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

RBC ($10^{12}/l$) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	6,9	6,1	7,7
	VB-B	5,9	5,1	6,5
	P-B	0	0	0,01
	EK-B	8,0	7,3	9,9
RBC ($10^{12}/l$) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	7,1	5,7	8,2
	VB-B	6,0	4,7	7,4
	P-B	0	0	0,02
	EK-B	8,9	7,5	9,5
Referenzbereich		5,5 – 8,5 $10^{12}/l$		

Tabelle 25: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der PLT für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

PLT ($10^9/l$) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	246,5	126	329
	VB-B	209,5	49	285
	P-B	2	0	8
	EK-B	3	0	11
PLT ($10^9/l$) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	207	156	511
	VB-B	171	49	392
	P-B	3	0	18
	EK-B	4	2	64
Referenzbereich		150 – 500 $10^9/l$		

Tabelle 26: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der WBC für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

WBC ($10^9/l$) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	8,69	5,03	12,48
	VB-B	6,86	4,22	9,69
	P-B	0,01	0	0,19
	EK-B	0,01	0	0,1
WBC ($10^9/l$) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	8,2	5,02	15,58
	VB-B	6,67	3,99	14
	P-B	0,01	0	0,18
	EK-B	0,05	0,01	0,65
Referenzbereich		5,48 – 13,74 $10^9/l$		

Tabelle 27: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des P für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

P (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,39	1,03	1,99
	VB-B	3,71	3,11	4,24
	EK-B	1	0,63	1,45
P (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,39	0,88	1,71
	VB-B	3,56	2,39	4,43
	EK-B	0,76	0,56	1,31
Referenzbereich		0,79 – 2,10 mmol/l		

Tabelle 28: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes des Kaliums für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

K (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	4,13	3,71	4,64
	VB-B	2,99	2,8	3,18
	EK-B	1,18	0,85	1,71
K (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	4,28	3,95	4,54
	VB-B	3,14	2,57	3,46
	EK-B	1,07	0,77	1,72
Referenzbereich		3,35 – 4,37 mmol/l		

Tabelle 29: Darstellung des Medians, Minimal- und Maximalwertes der LDH für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

LDH (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	25	10	69
	VB-B	22	1	60
	EK-B	12,5	1	35
LDH (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	24,5	2	64
	VB-B	30	1	160
	EK-B	13	1	261
Referenzbereich		85,7 - 225 U/l		

Tabelle 30: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pH-Wertes für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

pH (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	7,35	7,05	7,45
	VB-B	7,04	6,97	7,40
	EK-B	7,05	6,97	7,12
pH (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	7,38	7,33	7,43
	VB-B	7,06	6,95	7,22
	EK-B	7,04	6,97	
Referenzbereich		7,31 – 7,41		

Tabelle 31: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pO₂ für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

pO ₂ (mmHg) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	44,95	34,5	59,8
	VB-B	56,4	44,2	73,5
	EK-B	72,2	54,6	107,4
pO ₂ (mmHg) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	46,5	31,6	55
	VB-B	62,75	46,9	70,6
	EK-B	71,75	52,6	87,8
Referenzbereich		30 – 40 mmHg		

Tabelle 32: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des pCO_2 für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

pCO₂ (mmHg) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	38,25	31,3	56,7
	VB-B	62,2	41,4	69,6
	EK-B	34,4	30,4	41,8
pCO₂ (mmHg) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	36,15	32,3	45,7
	VB-B	60,95	41,6	69,4
	EK-B	38,3	35,1	44,6
Referenzbereich		41 - 51 mmHg		

Tabelle 33: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes der Glukose für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Glukose (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	6,95	5,1	30,5
	VB-B	26,9	21,7	30,5
	EK-B	35,8	33,2	39,7
Glukose (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	6,2	4,4	12,1
	VB-B	26,8	17,8	30,6
	EK-B	38,7	36,8	39,5
Referenzbereich		3,3 – 6,1 mmol/l		

Tabelle 34: Darstellung des Medians, Minimum- und Maximalwertes des Laktates für die Gruppe Hohlfasersystem und Zentrifuge an den unterschiedlichen Entnahmeorten

Laktat (mmol/l) (Hohlfasersystem)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,1	0,5	1,9
	VB-B	0,95	0,6	1,8
	EK-B	1,2	0,5	2,1
Laktat (mmol/l) (Zentrifuge)		Median	Minimum	Maximum
Entnahmeort	SP	1,1	0,5	2,3
	VB-B	1,2	0,5	2,2
	EK-B	0,9	0,5	1,6
Referenzbereich	0,4 – 2,2 mmol/l			

Prozentuale Differenz Plasma und VB

Tabelle 35: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für die PT, aPTT, das Fibrinogen, den FV, FVIII, das vWF-Antigen und das AT III unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff PT %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	21,5	1,3	45,8
Zentrifugation	3,6	- 2,1	10,3
Diff aPTT %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	25,6	0	52,1
Zentrifugation	8,2	- 0,7	24,7
Diff Fibrinogen %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 48,3	- 71,3	- 39,3
Zentrifugation	- 2,4	- 19,1	34,6
Diff FV %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 18,7	- 37,6	- 7,5
Zentrifugation	- 7,9	- 21,6	0,9
Diff FVIII %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 12,9	- 27,7	- 4
Zentrifugation	- 13,5	- 34,6	12,3
Diff vWF-Antigen %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 9,8	- 43,0	58,8
Zentrifugation	- 2,7	- 42,0	756
Diff AT III %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 15,2	- 26,7	4,0
Zentrifugation	- 2,6	- 12,1	15,3

Tabelle 36: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für das TTP, Albumin und die Globuline unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff TTP %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 13,4	- 28,6	10,3
Zentrifugation	- 4,6	- 14,8	3,4
Diff Albumin %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 10,9	- 17,0	-5
Zentrifugation	- 3,1	- 13,5	1,22
Diff Albumin % (Elektrophorese)	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	2,4	- 7,4	5,6
Zentrifugation	- 0,1	- 5,0	14,8
Diff α 1-Globuline %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 5,2	- 77,1	177,8
Zentrifugation	- 17,8	- 66,6	86,3
Diff α 2-Globuline %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 0,3	- 20,1	52,1
Zentrifugation	0	- 20,1	15
Diff β 1-Globuline %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 1,5	- 38,7	193,3
Zentrifugation	2,9	- 30,7	250
Diff β 2-Globuline %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 4,7	- 16,7	16,6
Zentrifugation	- 1,1	- 15,6	18,7

Tabelle 37: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem Plasma- und Vollblutbeutel für die gamma-Globuline unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff γ-Globuline %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	0,6	- 29,8	20,4
Zentrifugation	- 2,3	- 26,7	19,4

Prozentuale Differenz EK und VB

Tabelle 38: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und dem Vollblutbeutel für den Hkt, das Hb, CHCM, MCHC, MCV, die RBC und PLT unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff Hkt %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	38,2	25,5	51,2
Zentrifugation	47,7	22,2	61,7
Diff Hb %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	37,6	25	72,6
Zentrifugation	47,6	22,2	64,7
Diff CHCM %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 2,2	- 3,0	- 1,5
Zentrifugation	- 2,1	- 3,2	- 1,5
Diff MCHC %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	0,04	- 2,6	5,8
Zentrifugation	0,04	- 23,1	1,7
Diff MCV %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	2,0	0,8	3,9
Zentrifugation	1,9	0,9	2,3
Diff RBC %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	34,0	21,7	62,5
Zentrifugation	44,7	20,9	60,2
Diff PLT %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 98,5	- 100	- 91,8
Zentrifugation	- 96,9	- 98,8	- 74,1

Tabelle 39: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und Vollblutbeutel für die WBC, das TTP, Albumin, P, K, LDH und den pH-Wert unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff WBC %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 99,7	- 100	- 98,7
Zentrifugation	- 99,2	- 99,8	- 90,8
Diff TTP %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 69,9	- 83,8	- 51,4
Zentrifugation	- 81,3	- 83,8	- 55,9
Diff Albumin %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 71,8	- 82,9	- 51,6
Zentrifugation	- 82,7	- 85,3	- 68,1
Diff P %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 74,2	- 81,4	- 59,4
Zentrifugation	- 76,0	- 85,7	- 68,12
Diff K %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 61,2	- 71,2	- 38,9
Zentrifugation	- 64,7	- 71,3	- 50,2
Diff LDH %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 45,8	- 97,0	107,7
Zentrifugation	- 53,3	- 93,7	770
Diff pH %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 0,1	- 4,5	0,4
Zentrifugation	- 0,2	- 1,9	0,4

Tabelle 40: Darstellung der prozentualen Differenz zwischen dem EK- und Vollblutbeutel für den pO_2 , pCO_2 , die Glukose und das Laktat unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Diff pO_2 %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	24,8	- 3,2	66,5
Zentrifugation	16,6	- 3	43,2
Diff pCO_2 %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	- 41,0	- 49,4	- 9,4
Zentrifugation	- 35,5	- 45,0	- 10,5
Diff Glukose %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	37,5	22,8	79,2
Zentrifugation	47,0	26,1	113,5
Diff Laktat %	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	16,1	- 35,7	250
Zentrifugation	- 21,5	- 35,7	0

Vergleich Volumen und Separationsdauer

Tabelle 41: Darstellung des Volumens vom Vollblut- Plasma- und EK- Beutel sowie der Separationsdauer unter Angabe des Medians, Minimal- und Maximalwertes

Volumen Vollblut (g)	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	486,5	449	543
Zentrifugation	475	420	540
Volumen Plasma (g)	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	224	205	269
Zentrifugation	247	174	290
Volumen EK (g)	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	223	175	260
Zentrifugation	211	160	249
Dauer Separation (h)	Median	Minimum	Maximum
Hohlfasersystem	0,5	0,4	2,5
Zentrifugation	1,0	0,5	2,1



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6735-9



9 783835 196735 9